

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FOTODİNAMİK TERAPİ SIRASINDA TEKLİ
OKSİJENİN İZLENMESİ VE TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN
ARTTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Ali Furkan KAMANLI

Enstitü Anabilim Dalı : ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜH.

Enstitü Bilim Dalı : ELEKTRONİK

Tez Danışmanı : Dr. Öğretim Üyesi Gökçen ÇETİNEL

Ortak Danışman : Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Zahid YILDIZ

Haziran 2020

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim..

Ali Furkan KAMANLI

16.06.2020

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Gökçen ÇETİNEL ve Ortak danışman hocam Doç. Dr. Mustafa Zahid YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. İhsan PEHLİVAN ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım Dr. Öğretim Üyesi Halil ARSLAN, Necla KENAR LİM ve Hyun Soo LİM'e teşekkür ederim.

Bütün öğretim hayatım boyunca bana desteğini esirgemeyen annem Fatma Meltem KAMANLI, kardeşlerim Burak, Ayşegül ve babam Prof. Dr. Ayhan KAMANLI'ya teşekkür ederim. Doktora döneminde yanımda olan ve desteklerini esirgemediğim yanımda olan eşim Menekşe Gül KAMANLI'ya ve oğlum Ömer Faruk KAMANLI'ya teşekkür ederim. Bu tezde en az benim kadar emekleri bulunduğunu da belirtmek isterim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2017-50-02-027) ve TÜBİTAK'a (116F119-118E235) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Kaynak Araştırması.....	2
BÖLÜM 2.	
TEKLİ OKSİJEN MOLEKÜLÜ ALGILAMA SİSTEMİ.....	19
2.1. Materyal ve Yöntem.....	21
2.1.1. Işık kaynağı tasarımı ve deney fantom ortamı oluşturulması	21
2.1.2. Tekli Oksijen Algılama Sistemi (SODS).....	25
2.1.2.1. Radyasyon toplayıcı lens sistemi.....	26
2.1.2.2. Çığ fotodiyot elektronik devre tasarımı	27
2.1.3. ARM işlemci tabanlı sinyal işleme bloğu	33
2.2. Deneysel Sonuçlar	34
2.3. SODS Ölçümlerinin Doğrulanması	37
2.4. Araştırma Bulguları ve Tartışma.....	40
BÖLÜM 3.	
ÇOK IŞIMA MODLU LAZER FDT IŞIK KAYNAĞI GELİŞTİRİLMESİ.....	45

3.1. Materyal ve Yöntem.....	47
3.1.1. MPTL sistem tasarımı	48
3.1.2. Ana kontrolör tasarımı	48
3.1.3. ARM tabanlı lazer sürücü tasarımı.....	49
3.1.4. Işıma Modları	51
3.1.5. Lazer sürücü yazılımı	53
3.1.6. TEC sıcaklık kontrolörü	53
3.2. Deneysel Sonuçlar	54
3.2.1. Lazer diyotun elektriksel parametreler ve sıcaklık kararlılığı...	54
3.2.2. Çok-bölgeli PID entegrasyonu	56
3.2.3. Işıma modlarında dalga boyu ve optik güç kararlılığı.....	56
3.2.4. Işınlama modlarının doku üzerindeki termal etkisi.....	59
3.3. Araştırma Bulguları ve Tartışma.....	61
 BÖLÜM 4.	
MPTL VE SODS SİSTEMLERİ KULLANILARAK SOED VE SOLD TABANLI DOZİMETRİK YÖNTEMLER İLE AMFDT UYGULAMASI.....	65
4.1. Giriş.....	66
4.2. Materyal ve Yöntem.....	69
4.2.1. Bakteri kültürü oluşturma prosedürü.....	69
4.2.2. Atım ve süper atım modlarının tekli oksijen miktarına etkisi...	70
4.2.3. Deneysel süreç.....	72
4.3. Deneysel Sonuçlar	75
4.3.1. SOED/SOLD foton sayısı karşılaştırmaları	77
4.4. Araştırma Bulguları ve Tartışma.....	83
 BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ	87
KAYNAKLAR.....	91
ÖZGEÇMİŞ.....	112

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ADC	:Analog Dijital Dönüştürücü
ALA-5	:5-aminolevulinik asit
AmFDT	:Antimikrobiyal FDT
APD	:Avalanche Photodiode
AR	:Anti-reflective
ARM	:Advanced RISC Machines
ATG5	:Autophagy related 5
BPD	:benzophenothiazinium
BPM	:Patlamalı Atım Modu
CPU	:Ana işlemci
CRC	:Kolonorektal Kanseri
CTRL	:Kontrol pini
CW	:Continuous Mode
DAC	:Digital Analog Converter-
DNA	:Deoxyribonucleic acid
ER-YAG	:Erbium -Yag Lazer
EtNBS	:Benzophenothiazinium derivative
FDA	:Food and Drug Administration
FDT	:Fotodinamik Terapi
fW	:FemtoWatt
FWHM	:Full width half maximum
GBP	:Kazanç-Bant Genişliği
GHz	:GigaHertz
GUI	:Grafik kullanıcı arayüzü
HeLa.	:Hücre kültürü
HPD	:Hematoporfirin

HPPH	:1-hexyloxyethyl-2-devinyl pyropheophorbide-a
InGaAs SPAD	:Single Photon Avalanche Detector
IR PMT	:Infrared Photo Multiplier Tube
KHz	:KiloHertz
KTP	:Mavi-Yeşil Spektrum, Kristal Bazlı
LD	:Lazer Diyot
LDL	:Low Density Lipoprotein
LED	:Light emitting diode
MB	:Metilen Mavisi
MHz	:MegaHertz
MPTL	:Çok Moldu FDT Lazer Işık Kaynağı
MRSA	:Staphylococcus Aureus Türleri
m-THPC	:M-tetra hidroksifenil klor
mW	:MiliWatt
NFAD	:Negatif Geribildirim Çığ Diyot
NIR	:Near Infrared
NMSC	:Nonmelanoma deri kanseri
ns	:Nanosaniye
PCB	:Printed Circuit Board-
PIN	:p-i-n junction
PM	:Atım Modu
PN	:Positive Junction
PS	:Fotosensitizan
pW	:PicoWatt
PWM	:Pulse width modulation
SA	:Staphylococcus Aureus
SNR	:Signal to Noise Ratio
SNSPD	:Süper İletken Nanowire Tek Foton
SODS	:Tekli Oksijen Algılama Sistemi
SOED	:Tekli Oksijen Açık Dozimetrisi
SOLD	:Tekli Oksijen Luminesans Dozimetrisi
SPM	:Süper Atım Modu

TEC	:Thermo Electric Cooling
TIA	:Transimpedance Amplifier
VEGF	:Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Yb	:Ytterbium
μL	:Mikrolitre
μs	:Mikrosaniye



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Tezde ele alınan problemler, üretilen çözümler ve tezin katkıları.....	17
Şekil 2.1. Geliştirilen SODS sistemi blok diyagramı.....	21
Şekil 2.2. D, görev döngülü bir PWM sinyali.....	22
Şekil 2.3. Kırmızı LED'in Akım-Gerilim Grafiği	24
Şekil 2.4. Basitleştirilmiş Sabit Akım Kaynağı Devresi	24
Şekil 2.5. a) LED-zamanlayıcı bağlantısı, b) Yüksek frekanslı LED sürücü d.	25
Şekil 2.6. Kollektör lens mesafe diyagramı.	26
Şekil 2.7. SODS'nin ayrıntılı gösterimi a) SODS probu ve fantom ortamı, b) sistemin kesit görünüşü, c) Tasarlanan sistemin resmi.	27
Şekil 2.8 Temel bir akım voltaj dönüştürücü Opamp devresi.....	29
Şekil 2.9. Temel bir transimpedans devresi	30
Şekil 2.10. Arttırılmış bant genişliği için tasarlanmış TIA.	31
Şekil 2.11. Yüksek frekanslı sinyal algılama için diferansiyel amplifikatör devresi ve Chebyshev filtresi.....	32
Şekil 2.12.SODS sisteminin 70 ns'lik 1200-1300 nm arasında oluşturulan lüminesansa verdiği sistem cevabı.	35
Şekil 2.13. SODS sisteminin 70 ns (1200-1300 nm) süreli ışıınım için, a) optik gürültü altında ve b) Longpass filtre sonrası sistem cevabı.....	35
Şekil 2.14. Daha uzun süreli ışımalara karşı (500 ns) SODS sistem cevabı.....	36
Şekil 2.15. 70 ns'lik ışıma süreleri için ölçülen ortalama yoğunluk değerleri.....	39
Şekil 2.16. Farklı ışıma atım süreleri için SODS'un optik güç tepki değişimi.	39
Şekil 3.1. MPTL sistemi blok şeması	48
Şekil 3.2. ARM-tabanlı LD sürücü devresi.....	50
Şekil 3.3. a) CW, b) PM, c) BPM ve d) SPM'nin enerji seviyeleri.....	52
Şekil 3.4. Akım, voltaj ve LD optik çıkış ilişkisi.	54

Şekil 3.5. a) Zamana bağlı sıcaklık değişim grafiği b) MPTL sisteminin başlama durumunda ilk tepkisi.....	55
Şekil 3.6. Dört farklı güç aralığı için uygulanan PID bölgeleri A / D değerine karşı optik güç, a) 0-1500 mW, b) 0-10 mW, c) 10-200 mW, c) 200-1000 mW, d) 1000-1500 mW.	56
Şekil 3.7. Tüm radyasyon modları için, a) Dalgaboyu spektrumu, b) Dalgaboyunun 500 mW optik güç kararlılığı.	57
Şekil 3.8. MPTL sisteminin aynı enerji için optik çıkışları ve kararlılıkları: a) CW, b) PM, c) BPM, d) SPM.	58
Şekil 3.9. a) LD akımında oluşan istenmeyen akım pikleri, b) istenmeyen piklerden temizlenmiş LD akımı.....	59
Şekil 3.10. Doku yüzeyinin sıcaklığını ölçmek için kullanılan test düzeneği	60
Şekil 3.11. Işınma modları için enerji /doku sıcaklığı eğrisi.	61
Şekil 4.1. Çalışmanın deneysel yapısı.....	73
Şekil 4.2. Tekli oksijen molekülü ölçümü için tasarlanan deney düzeneği.	74
Şekil 4.3. SOED yönteminin hesaplamaları, a) Hesaplanan $[^3\text{O}_2]$ değeri ve temel durumdaki $[^3\text{O}_2]_0$ oksijen miktarı b) Ortalama $[^1\text{O}_2]_{\text{rx}}$ miktarı.....	76
Şekil 4.4. Birinci ve ikinci deneyler için, a) Her atım sonrası anlık tekli oksijen konsantrasyonu, b) Kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu	78
Şekil 4.5. Üçüncü ve dördüncü deneyler için, a) Her atım sonrası anlık tekli oksijen konsantrasyonu, b) kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu	79
Şekil 4.6. SOED ve SOLD yöntemleri ile elde edilen kümülatif tekli oksijen miktarının karşılaştırılması.	83

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Fotodinamik terapinin farklı uygulama çeşitleri üzerinde lazer ve LED uygulamaları.....	12
Tablo 2.1. Önerilen çalışmanın mevcut çalışmalarla karşılaştırılması.	43
Tablo 4.1.Deneyler için atım modları ile yapılacak deneyler için MB fotofiziksel parametreleri.....	71
Tablo 4.2. Gerçekleştirilen deneylerin ışıma parametreleri.	75
Tablo 4.3. SA tedavi sonrası inaktivasyon yüzdesi.....	81

ÖZET

Anahtar kelimeler: Fotodinamik terapi, tekli oksijen molekülü, çığ fotodiyot, lazer ışık kaynağı, radyasyon modları, antimikrobiyel fotodinamik terapi, bakteri

Fotodinamik terapi uygulama bölgesinin fotosensitizan ile birlikte oksijen ihtiva etmesi koşulu altında gerekli enerjiye sahip ışık ile uyarılması sonucu enerjiye bağlı olarak oluşan tepkimenin ardından doku/hücre/bakteri ölümü gerçekleşmektedir. Aynı tümör veya enfeksiyon türleri için kullanılan tedavi protokolleri önemli ölçüde hastadan hastaya ve bölgeden bölgeye değişmektedir. Işık kaynağı, ışık iletimi, tekli oksijen miktarı, fotosensitizan oksijen etkileşimi Fotodinamik terapinin başarısına ayrı ayrı etki edebilen parametrelerdir.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; Fotodinamik terapinin teknik problemleri içerisinde bulunan ışık kaynağı ve tekli oksijen molekülünün izlenmesi problemlerine bütüncül bir bakış ile yaklaşılarak çok modlu lazer ışık kaynağı ve tekli oksijen molekülü izleme sistemi geliştirilmiştir. Ayrıca geliştirilen bu sistemler ile bakteri tabanlı Fotodinamik terapi uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Sunulan tez bu kapsamda 3 ana parçaya bölünmüştür. Bölümlerin amaçları şu şekilde özetlenebilir; birinci bölümde amaç tekli oksijen molekülü yakalama sisteminin geliştirilmiştir. Sistemin frekans aralığı 10 ns-15 μ s arasında gerçekleşebilecek ışınlamaları yakalayacak şekilde tasarlanmıştır. İkinci bölümde çok modlu lazer ışık kaynağının geliştirilmesi ile karalı bir ışık kaynağı elde edilmesi amaçlanmıştır. Önerilen sistemin 0 ila 1500 mW $\pm$ 1 mW yüksek optik çıkış, 635 nm $\pm$ 1 nm 'de dalga boyu kararlılığına ve sistem içi yüksek sıcaklık kararlılığına 15 $^{\circ}$ C $\pm$ 0.2 $^{\circ}$ C sahip olduğu yapılan ölçümler ile gösterilmiştir. Üçüncü bölümde antimikrobiyal fotodinamik terapi uygulaması kapsamında SOED (tekli oksijen molekülü açık dozimetrisi) ve SOLD (tekli oksijen molekülü ışıma dozimetrisi) tabanlı dozimetrik metodların in vitro bakteri ortamında karşılaştırılmış ve %10 oranında korelasyon gösterdikleri ve geliştirilen bu modelin ile antimikrobiyal fotodinamik terapi de %3-%10 daha iyi sonuçlar verebildiği gözlemlenmiştir.

Tezde ele alınan problemler ve tezin literatüre katkıları şu şekilde özetlenebilir:

- FDT sırasında uygulama bölgesinin ısıya bağlı fotofiziksel parametrelerini değiştirmemesi,
- Oksijenlenmeyi sağlayarak hipoksik ortam oluşmasının önüne geçilmesi,
- Oluşan tekli oksijen molekülü miktarının Işık kaynağı atım modları kararlılığı ile belirli süreler içinde atımlar arasında aynı seviyede tutulması,
- Tekli oksijen konsantrasyonunun anlık ve kümülatif olarak alınması ve tedavi etkinliğinin takip edilebilmesi,
- Matematiksel ve Işıma takip tabanlı dozimetri sistemlerinin birbirine yardımcı olması amacı ile korelasyonunun ortaya çıkarılması olarak özetlenebilmektedir

SINGLET OXYGEN DETECTION AND IMPROVEMENT OF TREATMENT EFFECT DURING PHOTODYNAMIC THERAPY

SUMMARY

Keywords: Photodynamic Therapy, Singlet oxygen, Laser light source, Dosimetry

Photodynamic therapy is a treatment option that can be used in a wide range of applications such as cancer, rheumatoid arthritis, and infection treatment. A successful Photodynamic therapy treatment can be attained with the presence of three key components. These are the presence of special wavelength light, photosensitizer, and oxygen. The presence of oxygen in the targeted area directly affects the singlet oxygen concentration required for treatment and is an indicator of Photodynamic therapy dosimetry efficiency.

In this thesis; a Multimode laser light source and singlet oxygen molecule monitoring system have been developed with a holistic approach. In addition, bacteria-based Photodynamic therapy applications were carried out with developed systems. The presented thesis is divided into 3 main parts. The objectives of the part can be summarized as follows; In the first part, the aim is to develop a singlet oxygen detection system and conducting preliminary studies of this system in an electronic-based phantom environment. The frequency range of the system is designed to capture the radiation that can occur between 10 ns-15 μ s. In the second part, the aim was to develop a stable light source with four radiation modes. The system was achieved 0 to 1500 mW $\pm$ 1 mW high optical output, wavelength 635 nm $\pm$ 1 nm, and high-temperature stability within the system 15 $^{\circ}$ C $\pm$ 0.2 $^{\circ}$ C. In the third part, antimicrobial photodynamic therapy application was experimented. The developed multimode laser light source and singlet oxygen detection system was used. SOED (singlet oxygen explicit dosimetry) and SOLD (single oxygen luminescence dosimetry) based dosimetric methods were compared and it was observed that antimicrobial photodynamic therapy can give 3% -10% better results with super pulse mode.

The problems discussed in the thesis and the contributions of the thesis to the literature can be summarized as follows:

- The application area does not change the temperature-related photophysical parameters during FDT,
- Preventing a hypoxic environment by providing oxygenation,
- Keeping the amount of singlet oxygen luminescence level stable within the pulses,
- To be able to track the success of the treatment with measuring the instantaneous and cumulative singlet oxygen concentration,
- Mathematical and measurement-based dosimetric method correlation was observed to improve the treatment effect.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Bu bölümde tezin içeriğinin ve hedeflerinin daha iyi anlaşılabilmesi için bazı temel bileşenler açıklanmış ve literatür özeti verilmiştir. Ayrıca bölümün sonunda Fotodinamik terapi (FDT) tekli oksijen molekülü izleme uygulamaları için bütünsel yaklaşım verilmiştir.

1.1. Giriş

Fotodinamik terapi (FDT), kanser, romatoid artrit ve enfeksiyon tedavisi gibi geniş bir uygulama alanında kullanılabilen bir tedavi seçeneğidir. Başarılı bir FDT tedavisi üç anahtar bileşenin varlığıyla sürdürülebilir. Bunlar uygun dalga boyuna sahip ışık, fotosensitizan (FS) ve oksijenin hedef bölge içerisindeki varlığıdır. Hedeflenen bölgede oksijen varlığı doğrudan tedavi için gerekli olan tekli oksijen konsantrasyonunu etkilemektedir ve FDT dozimetri verimliliğinin bir göstergesidir. Antibiyotik dirençli bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların artması ve kanser vakalarının görülme oranının yükselmesi gibi bazı faktörler, farklı uzmanlık alanlarındaki bilim insanlarını ve klinisyenleri yeni, daha güvenli ve daha etkili terapötik çözümler aramaya zorlamaktadır. Bunun bir sonucu olarak, ışık ve kimyasalların bir kombinasyonu olan FDT, cilt hastalıklarını, enfeksiyonları, yara ve birçok kanser türünü tedavi etmekte alternatif bir çözüm olarak kullanılmaktadır. FDT, hedef dokuda seçici olarak lokalize olan fotoduyarlı maddelerin ilgili bölgede bulunması sırasında gerekli dalga boyuna sahip ışığın iridasyonu prensibine dayanmaktadır. Tedavi uygulama bölgesinin FS ile birlikte oksijen ihtiva etmesi koşulu altında gerekli enerjiye sahip ışık ile uyarılması sonucu enerjiye bağlı olarak oluşan tepkimenin ardından doku/hücre/bakteri ölümü gerçekleşmektedir. Etkin sonuçlar elde edilmesine rağmen, hastalarda FDT uygulaması hala nispeten gelişme kaydetmesi gereken bir alan olarak görülmektedir. Aynı tümör veya enfeksiyon türleri

için kullanılan tedavi protokolleri önemli ölçüde hastadan hastaya ve bölgeden bölgeye değişmektedir. Işık kaynağı, ışık iletimi, tekli oksijen miktarı, FS-oksijen etkileşimi FDT'nin başarısına ayrı ayrı etki edebilen parametrelerdir. FDT için kullanılacak ışık kaynağı, tümörün bulunduğu yer, verilen ışık dozu ve fotoduyarlı madde seçimi ile belirlenebilmektedir. Tedavi sırasında oluşan tekli oksijen konsantrasyonunun yoğunluğu ile tedavi başarısı takip edilebilmektedir. Tekli oksijen molekülü bu tepkime sırasında 1270'nm de bir ışıma yapmaktadır. Bu ışımanın izlenmesi zorlayıcı bir teknik problem olsa da yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar elde edilmeye başlanmıştır. Tekli oksijen miktarının matematiksel olarak anlık hesaplanması için farklı yöntemler geliştirilmiştir. FDT kapsamında fotosensitizan alanında kimyasal, ışık kaynağı ve tekli oksijenin izlenmesi alanında mühendislik, doku yapısının incelenmesi alanında fizik ve tedavi yöntemleri açısından ise tıp alanında birçok çalışma yapılmıştır ve araştırmalara devam edilmektedir.

1.2. Kaynak Araştırması

Fotodinamik etkinin literatürde yapılan ilk çalışmalarında, bazı boyaların elektromanyetik spektrumun uygun bölgesindeki bir dalga boyuna sahip ışığa maruz kalma durumunda hücre veya mikroorganizmaları (hücre ölümüyle sonuçlanacak şekilde) ışığa duyarlı hale getirebildiği gösterilmiştir [1,2]. 1948'de eksojen olarak sağlanan porfirinlerin fareler üzerinde oluşturulan tümörlerde seçici olarak biriktiğini gösteren bir başka çalışma yapılmıştır [3]. Bu çalışma daha sonra kanser hastalarını içerecek şekilde genişletilmiştir. Çalışmada ham bir hematoporfirin içeren bir preparatın enjeksiyonu sonrası belirlenen bölgede tümör flüoresansına yol açtığı gözlemlenmiştir [4]. Mayo Klinik'teki bir grup hekimin, hematoporfirinin bir türevi kullanıldığında hastalarda tümör flüoresansının arttığını bildirmesi ile klinik FDT alanında büyük bir ilerlemenin ilk adımı atılmıştır [5,6]. Bu materyalin özellikleri yapılan ilk çalışmalarda net olarak açıklanmamıştır. Daha sonra hematoporfirin için "HPD" kısaltması, bu karakterize edilmemiş hematoporfirin türevine atıfta bulunmak için kullanılmaya başlanmıştır. Ardından, HPD'nin porfirin monomerleri, dimerler ve daha yüksek oligomerlerin bir karışımından oluştuğunu ortaya koyulmuştur.

Güney Carolina Tıp Koleji'nde bir grup araştırmacı HPD formülasyonunu yeniden oluşturmuştur ve bu ajanın, geniş bir hasta popülasyonunda ortaya çıkan tümör flüoresansı ile neoplaziyi lokalize etmek için kullanılabileceğine dair bir çalışma yayınlanmıştır [7]. Bu prosedürün törapatik etkilere sahip olabileceğini gösteren ilk çalışma in vivo (canlı üzerinde) olarak floresan lamba ve 150 watt akkor lamba kullanılarak hücre kültürü üzerinde hematoporfirin kullanılarak yapılmıştır [8]. Genel bir metodolojiye sahip olmasına karşın, bu çalışma hem hücre kültüründe hem de farelere nakledilen tümörlerde glioma hücrelerini ortadan kaldırmanın mümkün olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın ardından Rosherty Park Kanser Enstitüsü'ndeki hematoporfirinin murin tümörlerini yok etme yeteneğinin de gösterildiği bir çalışma yayınlanmıştır [9]. Işıma radyasyonu 1000 watt'lık bir xenon lamba tarafından sağlanmıştır, 620 nm' nin altındaki ve 640 nm'nin üzerindeki dalga boylarını elimine etmek amacıyla optik filtreler kullanılmıştır. Yine 1978'de bir grup araştırmacı çalışmalarında ışığa duyarlı hale getirme materyali olarak HPD kullanılmış ve çeşitli lokasyonlarda bulunan tümöre sahip olan hastaların başarılı bir şekilde tedavi edildiğini bildirmiştir [10]. Bu çalışmadan sonra meme karsinomunun başarılı bir şekilde tedavi edildiğini gösteren bir çalışma yayınlanmıştır [11]. Başlangıçta Von Tappeiner tarafından sunulan terminolojiye dayanılarak, kullanılan bu prosedür Fotodinamik Terapi (FDT) olarak adlandırılmıştır.

Neoplastik dokularda porfirin lokalizasyonuna sebep olan nedenler kısmen bilinmekle birlikte yapılan bir çalışmada biyodistribüsyonu tanımlamak için radyoaktif preparatlar kullanılmıştır [12]. Bu çalışma, HPD'nin normal bölgelere göre malign (kötü huylu) dokularda konsantre olduğunu, ancak başlıca birikim bölgelerinin karaciğer, böbrek ve dalak olduğunu ortaya koymuştur. Bu bölgelere özel bir sistem olmadan ışığın ulaşması mümkün olmadığından, malign dokuların hedefli olarak yok edilmesi mümkün olmuştur. Bir başka önemli bulgu ise, FDT sırasında üretilen ana sitotoksik ajan olarak gelen ışığın porfirinler üzerindeki etkisiyle tekli oksijen molekülünün üretildiğinin ortaya çıkmasıdır [13]. Aynı çalışma ekibi 1995 yılında özofagus kanseri tedavisi için FDA (Food and Drug administration) tarafından prosedürün onaylanmasında büyük rol oynayan bir başka çalışma yapmıştır. Çalışmada HPD'nin kanser kontrolü üzerindeki rolü hakkında ayrıntılı bilgi ortaya

konulmuştur. Bu alanı daha fazla aydınlatabilmek için ekip çalışmalarına devam etmiştir [14-15]. FDT uygulamalarına kritik katkıda bulunanlar arasında Tokyo Tıp Koleji'nde Hayata, Avustralya'da Forbes ve Kaye, İngiltere'de Carruth, Avrupa ve Asya ülkelerinde ise pek çok kişi bulunmaktadır. İlk FDA onayı verildiğinde FDT araştırması için fon elde edilmesinin kolaylaşması ile çalışmalar hız kazanmıştır. 1991 yılına kadar, fotosensitizan maddelerin malign hücreleri yok etme yeteneğini tanımlamak için makul bir mekanizma tanımlanamamıştır. Bununla birlikte, radyasyonun kanser kontrolünde önemli bir element olan tümör vaskülaritesinin eradikasyonuna yol açabileceği ortaya konulmuştur [16]. Yapılan çalışmalar sonucunda daha farklı bir alan olan makula dejenerasyonunu tedavi etmek için FDT kullanımının mümkün olduğu ortaya koyulmuştur [17]. Makula dejenerasyonu retinadaki kan damarlarının çoğalmasından kaynaklanmaktadır. Mevcut protokoller hem FDT hem de VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) antagonistlerini içermektedir [18]. 1991 yılına kadar FDT ile ilgili literatür temel olarak klinik raporlar olarak gerçekleşmiştir. Protokoller ve ışık kaynakları ilgili çalışmalar daha sonra birçok ekip tarafından yapılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, Roswell Park Kanser Enstitüsü'ndeki Pandey grubundan HPD'deki "aktif" bileşenlerin tanımlanmasına ilişkin bir çalışma yayınlanmıştır [19]. Bu bileşenler bir dizi porfirin dimeri ve yüksek oligomerlerin eter bağlantısı olarak tanımlanmıştır. Piyasada bulunan ve FDA onayı alan ürün, monomerik porfirinlerin HPD'den çıkarılmasıyla oluşturulmuştur. Ortaya çıkan yeni ürüne 'Photofrin' adı verilmiştir ve klinik FDT için faydalı olmaya ve photofrin birçok tedavi yöntemi için kullanılmaya devam etmektedir.

Hücreleri ışığa duyarlı hale getirebilen birçok ışığa duyarlı ajanın olduğu anlaşıldıktan sonra, seçilen ışığa duyarlaştırıcıya bağlı olarak hücrelerin farklı alt bileşenlerinin etkilendiği ortaya çıkarılmıştır. Bu tür ajanların çoğu florojenik olduğundan, floresan mikroskopisi ile hedeflenen yapının tespiti kolayca yapılabilmiştir. Fotosensitize etme yeteneğinin olması bir ajanı otomatik olarak FDT için iyi bir aday yapmaya yeterli değildir. İlaç verilmesi ile ilgili olarak, formülasyon ve farmakokinetik özelliklerin yanında seçicilik açısından neoplazinin de etkili olduğu görülmüştür. FDT'nin klinik etkinliği yapılan çalışmalar ile gösterilmeye devam edildikçe, araştırmacılar farklı

ışığa duyarlı ajanlar ve vasküler etkilere ek olarak hücreyi ölüme götüren yolların açıklanmasına yönelik çalışmalar yapmaya başlamıştır. 1991'de Case Western Reserve Üniversitesi'nde Oleinick ve grubu tarafından bu etkinin apoptoz olduğu belirlenmiştir [20].

Literatüre giren ilk çalışmalar sonucunda FDT mekanizması tam olarak tanımlanamamış olsa da, FDT'nin oksijen, fotosensitizan ve ışığın etkileşimini içerdiği açık bir şekilde ortaya konulmuştur. Fotosensitizanın, ışıkla uyarılır ve aktive edilir ortamda moleküler oksijen ile birleşmesi sonucu fotodinamik sitotoksitenin (tip 2 foto-oksidasyon) ortaya çıkmasında reaktif tekli oksijenin ($^1O_2$) aktif rol aldığı belirlenmiştir. Tekli oksijenin ayrıca sitotoksik oksipinler oluşturmak için biyomoleküllerle reaksiyona girdiği de ortaya çıkarılmıştır. Tekli oksijenin hem kısa bir ömrü ($<0.04 \mu s$) hem de kısa etki yarıçapı ($<0.02 mm$) bulunmaktadır [21]. Alternatif olarak, uyarılmış bir foto duyarlılaştırıcı, moleküler oksijenle daha fazla reaksiyona giren serbest radikaller oluşturmak için doğrudan bir biyomolekülle (tip 1 foto-oksidasyon) reaksiyona girebilmektedir. Reaksiyonun temel özelliği aktif bir fotosensitizanın temel enerji seviyesine geri döndüğünde yaydığı ışıma sebebi ile floresan potansiyeli olmasına olanak sağlanmasıdır. Böylece tespit edilmesi zor tümörleri floresans saptama teknikleri ile lokalize etme fırsatı da sunmaktadır. Fotodinamik etkinin meydana geldiği hücrel ve hücre altı etkiler birçok araştırmaya konu olmuştur. Araştırmalarda doğrudan sitotoksik aktivitenin hem de mikrovasküler hasarın tümör dokusunun tahrip olmasına katkıda bulunabileceği görülmüştür. Doğrudan sitotoksik etki, ışığa duyarlı maddelerin plazma membranı gibi hücre zarına etki edebilmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu hasar şişlik, deride kabarmaların oluşumu, sitozolik enzimler içeren veziküllerin dökülmesi ve Na^+ , K^+ , -ATPase gibi membran enzimlerinin inhibisyonu ile kendini gösterebilmektedir [22-24]. Diğer subselüler hedefler arasında lizozomlar, Golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum bulunmaktadır. Fotosensitizanların düşük yoğunluklu lipoproteinlerle (low density lipoprotein-LDL) ilişkisinin bu alt hücrel bölgelerdeki lokalize etkisinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, yapılan çalışmalarda mitokondrinin porfimer sodyum (Photofrin®) ve 5-aminolevulinik asit (ALA-5) gibi belirli fotosensitörler tarafından hedef alınarak etkilenebildiği görülmüştür. Mitokondrinin sentezleme yolu

ile ALA'yı aktif metabolit protoporfirin IX'e dönüştürdüğü görülmektedir. Fotosensitizanların hücre çekirdeklerinde birikmediği ve DNA (deoxyribonucleic acid) hasarının fotodinamik etkide önemli bir rol oynamadığı görülmektedir. Bu durumda, FDT'nin in vitro sistemlerde mutajenik olmadığı gözlenmiş [25,26] ve broksuridinin (bromodeoksiridin) dahil edilmesi durumunda dahi, hücreleri DNA'nın iyonlaştırıcı radyasyonda olduğu gibi FDT'ye duyarlı hale getirmediği görülmüştür [27, 28].

Bahsedilen bu özellikler geri dönüşümsüz bir şekilde hücre hasarına yol açmaktadır ve sitokrom c'nin foto hasarlı mitokondriden veya foto hasardan diğer hücresel lokuslara ulaşması ile başlayan bir yapıya sahiptir. Apoptoz şemasındaki önemli bir protein olan Bcl-2'nin sıklıkla fotosensitizan tarafından hasara uğratıldığı görülmüştür [29, 30]. 1991'de yapılan bir çalışmada, vasküler kapanma ile birlikte FDT etkinliğini açıklayabilen ve alanda bir dönüm noktası olarak kabul edilen moleküler mekanizmanın belirtilen şekilde ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Lizozomlar FDT tedavisi sırasında hedef olduğunda ise dolambaçlı bir rota söz konusudur. Bu mekanizma, sitosolik proteinleri pro-apoptotik bir parçaya ayırabilen proteazların salınmasını içermekte ve hücre ölüm yolu olarak ise apoptozu işaret etmektedir [31]. Fotodinamik etkide ise bir başka faktör, öldürücü etkilerden koruma sağlayabilen ve hücre ölümüyle ilişkili olabilen otofaji olarak adlandırılan bir süreçtir. Otofaji, yaygın olarak gözlenen doz-yanıt eğrisindeki maksimum etkinin (tepe noktası) görüldüğü noktadır [32, 33], ek olarak otofaji, düşük ışık dozlarıyla foto öldürmede gecikmenin nedenini de açıklamaktadır. Fotodinamik etki sırasında nekroz meydana gelebilmektedir ancak, istenen yüksek FDT dozlarının seçici özelliğine sahip olamayabileceği ve bu mekanizmanın kesin olarak gerçekleşeceği kesin değildir. FDT'nin neden olduğu nekroz tabanlı hücre ölüm yolları konusunda yakın zamanda bir çalışma yapılmıştır [34]. Hücre ölüm mekanizması FDT bağlamında düşünüldüğünde, ışığa duyarlılaştırıcıların kombinasyonlarının kullanılması, hücresel alt hedeflere sahip ışığa duyarlılaştırıcı ajanların keşfedilmesi ile yapılabilir görülmektedir. Bu tür ajanların yüzlercesi literatürde tanımlanmış olmakla birlikte, az sayıda fotosensitizan klinik kullanım için gerekli olan sistem onayını almıştır. British Columbia Üniversitesi'ndeki bir grup, HPD'den daha iyi fotodinamik özelliklere sahip

bir fotosensitizan sentezlediğinde, bu fotosensitizanın benzoporfirin türevi (BPD) olarak adlandırılmasına karar vermiştir [35]. Benzer yapıya sahip olan ALA-5 fotosensitizanının klinik alandaki başarısı da, daha önce belirtildiği gibi FDT alanındaki büyük ilerlemelerden biri olarak literatüre kazandırılmıştır [36].

Kanada'daki bir grup araştırmacı, klinik FDT'de ALA-5 kullanımını ilk gerçekleştiren bilim insanlarından bazıları olarak bilinmektedir [37]. Bir dönem Asya'da klinik ilgi gören bir başka ajan da Rosey Park Kanser Enstitüsü'nde araştırmacılar tarafından (2-(1-hexyloxyethyl-2-devinyl pyropheophorbide-a) HPPH'dir [38]. Yapılan başka bir çalışmada EtNBS (benzophenothiazinium derivative) olarak adlandırılan bir BPD (benzophenothiazinium) ve tiazin fotosensitizan kombinasyonunun kobay farelerde 1 cm büyüklüğündeki tümörleri yok edebileceği gösterilmiştir [39]. Daha sonra yapılan bir çalışmada ise tipik tümör dokularına maksimum ışık penetrasyonunun maksimum derinliğinin en fazla 3-5 mm arasında olduğunu hesaplanmıştır [40]. Başlangıçta bu kombinasyonun etkinliğinin hem tümör hem de tümör vaskülaritesinin üzerinde eşzamanlı etkilerinin izlenebileceği düşünülmüştür. Bu duruma yapılan ilk açıklama ise, 20 yıl sonra bu ajanların mitokondri, endoplazmik retikulum ve lizozomları hedeflediği anlaşıldıktan sonra yapılmıştır. Lizozomal foto hasar, otofajiyle ilişkili protein ATG5'i (Autophagy related 5) pro-apoptotik etki gösteren bir enzim kalpainini aktive eden kalsiyumu serbest bırakması olarak açıklanmıştır [41]. Sonuç olarak, bu kombinasyon belirli bir ışık dozunun apoptotik yanıt üretme kabiliyetini önemli ölçüde artırmıştır [42]. BPD ve EtNBS farklı dalga boylarında (sırasıyla 690 ve 660 nm) aktive edildiğinden, bu kombinasyonun kullanılması iki ışık kaynağı gerektirmektedir. Bu durum ilk zamanlarda potansiyel bir dezavantaj olarak görülmüştür. Basit bir formülasyon modifikasyonu ile daha önce belirtildiği gibi BPD'nin etki alanına lizozomlar da eklenmektedir. Diğer bazı çalışma grupları FDT'nin kemoterapi ve iyonlaştırıcı radyasyonun etkinliğini artırma yeteneği olduğu belirlemişlerdir [43-45]. Ek olarak, FDT'nin immünolojik etkileri artırma yeteneği ile ilgili gelişmeleri gösterilmiştir [46-48]. Geliştirilen ilk fotosensitizanlar, HPD ve Photofrin, suda kolayca çözünür ve çözünme için özel bir formülasyon gerektirmemektedir. Bununla birlikte BPD suda çözünmez ve lipozomal formda verilmesi gerekmektedir [49,50]. Bu formda verilmesinin ek avantajlarından biri ise

Endoplazmik retikulum, mitokondri ve lizozomlara tek bir ışık dalga boyu hedefleyebilmektedir. Nanoformülasyonların kullanımı hem fotosensitizörlerin formüle edilmesi hem de neoplastik lezyonların daha iyi hedeflenmesini sağlamaktadır [51, 52]. Klinik kullanıma ulaşan ilk fotosensitizörün (HPD, Photofrin) hem suda çözünür olması hem de tümör ve tümör vaskülaritesini hedeflemesi, göreceli olarak toksik olmaması ve kolayca formüle edilmesi son derece iyi sonuçlar ortaya çıkmasına vesile olmuştur ve bu alandaki çalışmaları daha da hızlandırmıştır.

Bununla birlikte, FDT'nin bazı dezavantajlara sahip olduğu da çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. Tedavi gören hastaların cildinde biriken fotosensitizan madde sebebi ile hastaların birkaç hafta boyunca doğal ve yapay ışık kaynaklarından uzak durması gerekmektedir [11]. Ayrıca, dokuların penetrasyon derinliğinin daha yüksek olduğu kırmızı/yakın kırmızıötesi ışık spektrumunda bir absorpsiyon bandına sahip olması uygulamanın daha etkili olması için gereklidir [39]. Dolayısıyla kullanılacak olan fotosensitizanın yüksek oksijen etkileşimine ve kırmızı/yakın kırmızıötesi absorpsiyon bandına sahip olması uygulama etkinliğinin artması açısından büyük önem taşımaktadır.

Hücrel hasarı maksimum seviyeye çıkarabilmek amacı ile halihazırda klinik uygulamalarda kullanılan bir takım ilaçların ışığa duyarlı etkisinin bulunduğu ortaya çıkması ve kolay ulaşılabilir olmaları sebebi ile kullanılan malzemelerin ışığa duyarlılık özellikleri araştırılmaya başlanmıştır. Işığa duyarlı malzemeler hakkında kanser, enfeksiyon ve yara tedavilerinde kullanılmaları üzere çalışmalar yapılmıştır. Fotodinamik terapi tedavisinde oksijenin etkisi ve tekli oksijen oluşturma veriminin yukarıda bahsedilen mekanizmalara direkt olarak etki etmesi sebebi ile fotosensitizan olarak farklı maddeler bu alanda kullanılmaya başlanmıştır. Ortamda bulunan oksijen miktarının FDT başarısına direkt olarak etki etmesi sebebi ile suda çözülebilen ve oksijen çözme miktarı yüksek olan bazı ışığa duyarlı maddeler incelenmiştir. Bunların arasında en bilinenlerinden biri metilen mavisidir (methylene blue-MB).

MB, yıllardır kullanılmakta olan yaygın bir histolojik boyadır [53]. Bileşiklerin phenothiazinium sınıfına aittir. MB'nin karakteristik olarak sahip olduğu spektrum, 550-700 nm bölgesindeki, 664 nm'de maksimum absorpsiyon değerine sahiptir [54, 55].

Yapısı nedeniyle MB hücrelere nüfuz edebilmekte, histolojide bir boyama maddesi [56, 57] veya bir kemoterapötik ajan olarak [58-61] kullanılabilir. Hücre içindeki sitoplazmik yapılarla bağlanma ve tekli oksijen oluşturma özellikleri sebebi ile bakteri, mantar, virüs veya parazitlerin öldürülmesi için de kullanılabilir [62, 63]. MB ve türevlerinin süspansiyondaki patojenlerin inaktivasyonu için çok yönlü fotosensitizerler olduğu kanıtlanmıştır [64-66], *Candida* türleri [67, 68], *Escherichia coli* [69, 70], *Staphylococcus aureus* (SA) [71] ve MRSA (*Staphylococcus aureus* türleri) [72], tropikal hastalıklar [73] veya birkaç farklı virüsü [74, 75] başarılı bir şekilde elimine etmesi sebebi ile dolaşım yolu enfeksiyon tedavisi gibi antimikrobiyal alanlarda aktif olarak kullanılmaktadır [76-78]. Ek olarak, *in vivo* phenothiazinium kromofor sisteminde, oral enfeksiyonlarda [79] fotodinamik kök kanal dezenfeksiyonunu gerçekleştirmede [80-84], periodontitis tedavisinde, *Enterococcus faecalis* [85], *Porphyromonas gingivalis* [86] veya *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gibi bakterileri etkisiz hale getirmede kullanılabilir [87, 88].

Benzer gelişmeler FDT için önemli olan ışık kaynağı alanında yaşanmıştır. Işık kaynağının geliştirilmesinde FS spektrumu tasarım kriterinin ilk adımını oluşturmaktadır. Kullanılan fotosensitizanların ışığa en duyarlı oldukları dalga boyunda en kararlı dalga boyu/ optik güç eğrisine sahip ışımının elde edilmesi motivasyonu farklı teknolojik alt yapıya sahip ışık kaynaklarının geliştirilmesine öncülük etmiştir. Geliştirilen bu sistemlerin uygulama sırasında termal hasara sebep olup olmadığı, hedeflenen bölgenin oksijenlenip oksijenlenmediği ve tekli oksijen üretim miktarı önemli etkenler olarak araştırılmıştır. FDT alanında birçok ışık kaynağı farklı şekillerde kullanılmıştır. İstenilen dar bant spektrumunu sağlaması açısından öne çıkan ışık kaynakları arasında lazer ve ışık yayan diyot (Light emitting diode-LED) ışık kaynakları bulunmaktadır.

1960'da icat edilmelerinden sonra lazerler çok geçmeden tıbbi kullanıma sokulmuştur [89] Lazer ışığının tutarlılığı ve monokromatikliği gibi temel özellikleri lazerleri ameliyatta [90], hemanjiyomların tedavisinde [91], cilt yenilenmesinde [92], epilasyonda [93] vb. birçok uygulamada onları mükemmel araçlar haline getirmiştir. İnsan dokusuna uygulanan ve bir milimetrenin onda birinde gerçekleşen ışık iridasyonundan sonra ışığın koherans özellik kaybolur. Ancak, bu özellik FDT için gerekli değildir [94]. Ayrıca birçok uygulamada LED'ler lazerlere daha ucuz bir alternatif sunmaktadır. Bununla birlikte, ışık absorpsiyonu dokudaki ısı oluşumuna neden olur ve böylece ışığa maruz kalma sırasındaki sıcaklık, FDT'nin etkinliğinde önemli bir rol oynamaktadır. 60 dakikadan daha uzun süre uygulanan 41 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar hipertermi etkiler doğurabilir. Bu nedenle tedavi sırasında sıcaklığı kontrol etmek önemli ve gereklidir. Dolayısıyla saçılan ışık, neoplazmaların ışık ile iritasyonu için sıklıkla kullanılır [95]. Kohere olmayan ışık kaynaklarının temelde çıkış özellikleri lazerlerden farklıdır. FDT [96-99] için lazerler ve kohere olmayan ışık kaynakları kullanılmış ve genellikle benzer etkileri göstermiştir. [100,101].

Işık kaynakları ile ilgili anlatılan bu literatür ışığında, bugüne kadar aynı tip tümörlerin in vivo tedavisinde lazerler ve diğer ışık kaynakları arasında kapsamlı bir karşılaştırma yapılmadığı görülmektedir. Bu ışık kaynaklarının bazı farklı özelliklerinin ön plana çıkarıldığı çalışmalar bildirilmiştir [24-28, 89-93]. Bu ışık kaynakları arasında net bir avantaj dezavantaj bilgisi oluşturulamamış olsa da, lazerler, nihai FDT dozunu vermek için gereken süreyi azaltabilen monokromatik, yüksek optik güce sahip bir ışık kaynağı olması sebebi ile büyük avantaja sahiptir. Tek dalga boyuna sahip olarak üretilbildikleri, ışığa duyarlılığın sıklıkla dar emilim bandıyla eşleştirilmesi gerektiğinden önemli hale gelir. Bunun sonucunda bir lazerin yalnızca bir (veya sınırlı sayıda) FS ile birlikte kullanılabilmesi mümkün olmaktadır. Lazerlerin diğer önemli bir avantajı ise fiber optik kablo ile ışığın vücudun herhangi bir bölgesine minimal invazif yöntemlerle taşınarak ulaşılabilmesidir.

Lazerler ve farklı kaynaklar FDT uygulamaları için kullanılmıştır. Bir kaynağın diğerinden üstünlüğü hastadan hastaya farklılık gösteren protokollerden dolayı bazı vakalarda gösterilmiş olsa da kesinlik kazanmamıştır. Bu nedenle lazerler veya diğer ışık kaynaklarının kullanımı özel uygulamaya bağlıdır. Temel olarak daha başarılı sonuçların elde edilebildiği çalışmalar ile kanıtlanmış olan lazer ve LED ışık kaynakları bu alanda ön plana çıkmış ve birçok ekip tarafından kullanılmıştır. Genel özellikler kapsamında diğer ışık kaynakları FDT’de kullanılabilir görünse de, lazer ve LED kaynakların en ön plana çıktığı konuların başında ışıma modları gelmektedir. Oksijenlenmeyi arttıran, termal hasarın önüne geçen ışıma modlarının geliştirilmesi ile FDT’de ışık kaynağı olarak kullanım açısından lazer ve LED kaynaklar altın standart olma yolunda ilerlemeye başlamıştır.

Geliştirilen farklı altyapılara sahip bileşenlerin uygulama özelinde FDT’nin daha yüksek başarıya ulaşmasını sağlamak için belirtilen üç anahtar bileşenin dosimetri hesaplamalarının hassas bir şekilde yapılması ve anlık olarak tedavi etkinliğinin izlenebileceği sistemlerin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. FDT dozimetri hesaplamaları, genel olarak fotosensitizan miktarı ve ışık dozları ayarlanarak yapılmaktadır. Hedef ortamın doğasındaki farklılıklar nedeniyle bu genellikle yetersizdir [102, 103]. Ek olarak, hedef ortamın optik özellikleri ve oksijenasyonu tedavi sonucunu önemli ölçüde etkilemektedir [104, 105]. Uygulama sırasında dalgaboyu ve çıkış gücündeki kararlılık, FDT verimini arttıran en önemli parametrelerdir ve lazerin temel özelliklerinden biri olarak bilinmektedir. Buna bağlı olarak ışık kaynağı lazer veya LED olarak seçilse bile ışık penetrasyonu hem dokunun optik özelliklerine hem de lazer ışık enerjisinin dokuya verilmiş şekline bağlı olarak değişebilmektedir. Işık kaynaklarının farklı ışıma modlarında kullanılması ile termal hasar, hipoksik ortam gibi bazı temel sorunların çözülmesi hedeflenmiştir.

Işıma modlarının gerekliliği açısından literatür tarandığında sistematik olarak birçok çalışma yapıldığı görülmüştür. Temel olarak çalışmalar sürekli modda (continuous mode-CW) yapılmış olsa da daha sonra yapılan çalışmalar farklı ışıma modlarının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu çalışmaların yoğunlaştığı alan kanser tedavisi olarak görülmektedir. Fakat son gelişmeler ışığında dezenfeksiyon tedavisi için de bu

tarz çalışmaların literatüre kazandırıldığı görülmektedir. Bu çalışmalardan kanser alanında yapılanlara örnek olması açısından bazı derlemeler yapılmıştır. Malignite içeren her kanser, hem hasta hem de doktor için çözüm bulma zorunluluğunun olduğu bir meydan okumaya dönüşmektedir. Bu meydan okumaya kolorektal kanser (CRC) en iyi örneklerden biridir. Global epidemiyolojisi, CRC, üçüncü en sık görülen kanserdir. Onkolojik sebeplerden doğan ölümlerin sıralamasında dördüncü sırada yer almaktadır [106,107]. CRC, yüzdesi yılda% 2,5 oranında artan bir kanserdir. Bilim ve tıbbın sürekli gelişimine rağmen, CRC tanısı alan hastaların üçte birinde metastaz mevcuttur ve her hastada radikal tedaviye rağmen kanserin tekrar etmesi sıkça görülmektedir [108]. Bu sebeple, kanser hücrelerine hedeflenmiş irritasyon ile radikal yöntemlerin kullanılmasına duyulan gereksinim CRC için daha önemli görünmektedir. Aynı zamanda normal hücrelere zarar vermeden, çevresindeki tümör hücrelerini yok ederek ve bağırsak duvarının perforasyon riskini en aza indirgeyerek yıkım şansını artıracak yöntemlerin kullanılması da büyük önem arz etmektedir [109,110]. Erken aşamadaki kanser oluşumunda ortaya çıkan lezyonların tedavisinde ve kalın bağırsakta malign tümörlerin tedavisinde endoskopik prob kullanılarak FDT etkili bir şekilde uygulanabilmektedir [111, 112]. FDT’ nin farklı kanser çeşitleri üzerinde lazer ve LED uygulamaları Tablo 1.1.’de verilmiştir.

Tablo 1.1. Fotodinamik terapinin farklı uygulama çeşitleri üzerinde lazer ve LED uygulamaları

Referans	Tedavi dokusu	Sonuç	Deney Ortamı	FS - Dalga boyu
[113]	Ağır akne tedavisi	Tedavi başarı yüzdesi %89,13 olarak ölçülmüştür.	Klinik ortamda 44 hasta üzerinde denenmiştir.	- ALA-5 545 ve 630 nm
[114]	Hidradenitis suppurativa– kronik deri hastalığı	Tedavi başarı yüzdesi %71 olarak ölçülmüştür.	Klinik ortamda 7 hasta üzerinde denenmiştir.	- MB 635 nm
[115]	Ağır kronik periodontitis.	Tedavi başarı yüzdesi %50 olarak ölçülmüştür.	Klinik ortamda 5 hasta üzerinde denenmiştir.	- Porfirin 625–635 nm,
[116]	Nonmelanoma deri kanseri (NMSC)	Tedavi başarı yüzdesi %85 olarak ölçülmüştür.	Klinik ortamda 8 hasta üzerinde denenmiştir.	- MB, ALA-5, Porfirin derivatifi 460, 525 ve 630 nm

Tablo 1.1.(Devamı)

Referans	Tedavi dokusu	Sonuç	Deney Ortamı	FS - Dalga boyu
[117]	Hücre kültürü (HeLa)	Deney başarı yüzdesi %60 olarak ölçülmüştür.	Labaratuar ortamında Bakteri deneyi gerçekleştirilmiştir.	- M-tetra hidroksifenil klor (m-THPC) 637 ve 654 nm
[118]	Mine yüzeyi Streptococcus mutans'ın bakteri kolonizasyonu	Deney başarısı çürümenin bütün ortamlarda ertelenmesine sebep olması olarak belirlenmiştir.	Labaratuar ortamında Diş çürüten bakteri deneyi gerçekleştirilmiştir.	- MB 660 nm
[119]	Kolorektal kanser hücreleri(kolon kanseri)	Deney başarısı olarak, ALA-FDT, anti-tümör savunmasını uyaran GM-CSF sekresyonunu artırarak tümör ilerlemesini bütün deney ortamlarında engellemesi sunulmuştur.	Labaratuar ortamında Hücre hattı deneyi gerçekleştirilmiştir.	- ALA-5 600-700 nm
[120]	Glioma terapi	Deney başarısı tümör küçülmesi açısından %100 olarak değerlendirilmiştir.	Klinik ortamda Hayvan deneyi (fare) gerçekleştirilmiştir.	- Porfirin 626 nm
[121]	İnsan kolon kanseri hücresi	Deney başarısı ,In-vitro ve in-vivo insan kolon kanseri hücre dizisinde tekrarlanan deneylerin her birinde %70 üzerinde gerçekleşmiştir.	Labaratuar ortamında HT-29 hücre hattı deneyi gerçekleştirilmiştir.	- ALA-5 635 nm

Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda CW ve atımlı lazer ışınlama modlarının farklı düzeylerde termal hasar etkisi yarattığı görülmüştür [106-112]. Son zamanlarda, FDT'de denenen patlamalı atım modu, yani birçok kısa atımdan oluşan büyük bir atımın bunu takip eden bekleme süresi ile termal hasarın azaltılması konusunda elde edilen sonuçlar çok umut vericidir. Atımlı ve patlamalı atımlı lazer ışıma modları yüksek güç yoğunluklarında kısa süreli ışınlamalarla termal hasar yaratmaksızın iyileştirme etkilerini optimize etmektedir [106]. Süper atım modu, aynı dalga boyundaki ışığın sürekli dalga moduna göre dokularda nispeten yüzdesel olarak daha derine ulaşmasını sağlamakta, dokudaki termal hasarı ve tedavi sonrası rahatsız edici kaşınmayı da azaltabilmektedir [94].

Güney Kore’de yapılan in vitro hayvan doku çalışmalarında elde edilen üç farklı ısıma modunda aynı enerji yoğunluğu değerleri için doku sıcaklığı değerleri ölçülmüş ve değişimleri incelenmiştir. Bu deneylerden, elde edilen doku sıcaklığının enerji yoğunluğuna bağlı olarak değişiminin kullanılan atım modları ile daha az olduğu görülmektedir [122].

FDT sırasında kullanılan cihazlar yüksek teknolojiye ulaşmasına rağmen öngörülemeyen başarısızlıkların olması araştırmacıları tedavi etkinliğini anlık takibini sağlayan dozimetrik modeller ve sistemler geliştirmeye itmiştir. Uygulama ortamının ısıya bağlı fotofiziksel özelliklerini değiştirmeden oksijenlenme etkisini arttırabilme ve atımlar arasında çeşitli dozimetrik parametrelerin izlenebilmesi sebebi ile atım modlu ışık kaynakları daha da önem kazanmıştır.

FDT, belirli bir dalga boyunda tedavi ışığı, FS ve doku oksijeni ($[^3\text{O}_2]$) arasındaki karmaşık ve dinamik etkileşimlere sahip, çok yönlü bir tedavi yöntemidir [123-126]. Tipik bir fotodinamik terapide, FS uygun dalga boylu ışık tarafından uyarılır ve tekli oksijen molekülü oluşturur. Bu tekli oksijen molekülünün anlık olarak oluşturduğu yüksek enerji durumu, triplet oksijenin oluşmasına sebep olmaktadır. Triplet oksijen ($^3\text{O}_2$), tip I şeklinde gerçekleşen reaksiyonda, radikal iyonları üretmek için doğrudan moleküler yapılar ile reaksiyona girebilmektedir [127]. Klinik açıdan kullanışlı olan fotosensitizörlerin çoğu, triplet oksijen durumundan tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) molekülü durumuna 1270 nm de bir ısıma yaparak geçer, tip II proses yolu ile gerçekleşen bu reaksiyon hücre ölümüne sebep olur [4,128,129]. Bu ışımanın aktif ve gerçek zamanlı izlenmesi tek bir parametre üzerinden tedavi etkinliği ile ilgili net bir bilgi sağlayabilmektedir.

FDT dozimetrisi yakın zamana kadar fotosensitizan dozu ve ışık akısı seviyesinin (birim alan başına enerji) hesaplanmasını içermektedir. Hesaplama, benzer hastalıklarında ve benzer tümörlerde dahi hastadan hastaya farklılık gösterdiğinden ve fotosensitizan lokalizasyonundaki ufak farklılıklar büyük farklar doğurduğundan genellikle yetersiz kalmıştır [103,104, 130,131]. Doku, kan ve ortam oksijenasyonu FDT için anahtar bileşenlerdendir. PDT başarımı sadece $^1\text{O}_2$ üretiminden değil aynı

zamanda doku optik özelliklerinden de etkilenmektedir [132,133]. Ayrıca, ışık-doku etkileşimi doku optik özelliklerine de bağlı olarak değişmektedir [134]. Basit bir şekilde FDT dozu, ışığa duyarlı hale getirici konsantrasyonunun ve ışık akısının zamana bağlı integrali olarak tanımlanabilir. Bununla birlikte, ortamda oluşacak hipoksik etki bu tarz dosimetri hesaplamalarında dikkate alınmamaktadır. Hipoksik bir ortamda $^1\text{O}_2$ üretiminin beklenenden daha düşük olması ile tedavi sonucu öngörülemez şekilde değişmektedir [130, 131].

Yukarıda bahsi geçen nedenlerden dolayı, dozimetrik ölçüm olarak tekli oksijen konsantrasyonunun kullanılması [$^1\text{O}_2$] önerilmiştir. $^1\text{O}_2$ 'nin kıvılcıktan dalga boyu aralığında yaptığı luminesans seviyesi ile doğrudan ölçümü mümkündür. Fakat sinyalin zayıflığı ve $^1\text{O}_2$ 'nin, ~ 10 ns-2 us'lik kısa ömrü in vitro ve in vivo çalışmalarında teknik açıdan zorlayıcı bir problem olarak görülmektedir [135,136]. Bu nedenle, daha önce çeşitli duyarlılaştırıcılar için in vivo makroskopik SOED (Tekli Oksijen Açık Dozimetri, Singlet Oxygen Explicit Dosimetry) modeli geliştirilmiş ve incelenmiştir [131,137-139]. Yapılan bir diğer çalışmada ise SOED, SOLD (Tekli Oksijen Lüminesans Dozimetre, Singlet Oxygen Luminescence Dosimetry) ile alınan anlık ölçümler ile karşılaştırılmıştır [139,140]. Makroskopik model için ilgili fotofiziksel parametreler, açık bir oksijen konsantrasyonu ve fotosensitizan konsantrasyonunun matematiksel modeli olan SOED yöntemi ile doğrulanmıştır. SOED ve SOLD tarafından ölçülen $^1\text{O}_2$ arasında doğrudan bir karşılaştırma yapılırken, doğrudan luminesans tespitinin zor olduğu senaryolarda SOED'in kullanımı öne çıkmıştır. Araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışmada ise, 523 nm atımlı bir lazer kullanılarak ölçülen dozimetrik değerlerin, CW mod ışık kaynağı (630 nm) tarafından Photofrin tekli oksijen seviyesinin kabul edilebilir hata oranları içinde ilişkili olduğunu gösteren bir rapor sunulmuştur [141]. Sonuç olarak, bahsedilen ışık kaynağı ve tekli oksijen molekülü izleme sistemlerine bütüncül yaklaşılması gerektiği düşünülmektedir.

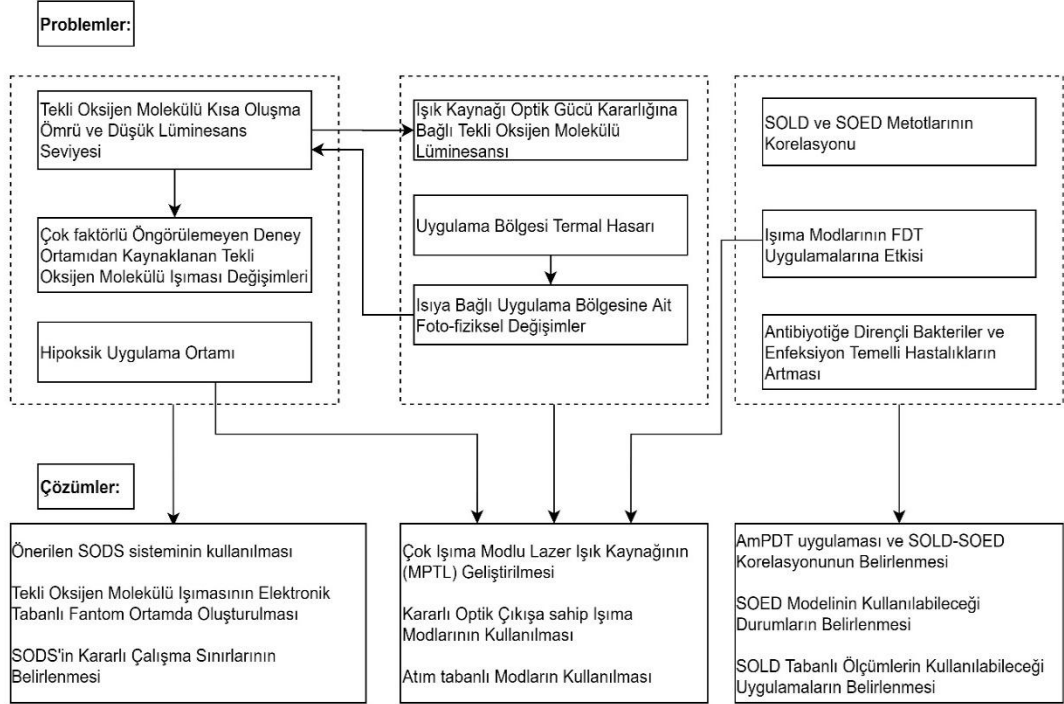
Gerçekleştirilen tezin genel amacı, FDT etkinliğinin analize edilmesinde ışık kaynağı ve tekli oksijen molekülünün izlenmesi problemlerine bütüncül bir bakış ile yaklaşarak bu problemlerin çözümü amacıyla Çok modlu FDT lazer ışık kaynağı (Multimode

Lazer PDT light source-MPTL) ve tekli oksijen molekülü izleme sistemi (singlet oxygen detection system-SODS) sistemleri geliştirilmiştir. Bu amaç kapsamında hedefler şu şekilde sıralanmıştır;

- a. FDT uygulanan bölgenin fotofiziksel parametrelerinin ısıya bağlı olarak değişmemesini sağlamak,
- b. FDT uygulanan bölgenin oksijenlenmesini sağlayarak hipoksik ortam oluşumunu önlemek,
- c. Işık kaynağı atım modlarının kararlılığını sağlayarak, atımlar arasında belirli süreler içinde oluşan tekli oksijen miktarının aynı seviyede tutulmasını sağlamak,
- d. Tekli oksijen konsantrasyonunun anlık ve kümülatif olarak belirlenmesi sağlayarak tedavi etkinliğinin takip edilmesini sağlamak,
- e. Işıma takip tabanlı dozimetri sistemleri ve matematiksel modeller üzerinden hesaplanan tekli oksijen molekülünün anlık ve kümülatif korelasyonunu belirlemektir.

Tez şu şekilde organize edilmiştir. Bölüm 2’de geliştirilen SODS sistemi tanıtılmıştır. SODS sisteminin elektronik tabanlı fantom bir ortamda ön çalışmaları yapılmıştır. Bölüm 3’de geliştirilen MPTL sisteminin analizleri gerçekleştirilmiştir. MPTL sistemini oluşturan üç ana bileşen açıklanmıştır. Bölüm 4’de ise antimikrobiyal FDT uygulaması kapsamında MPTL ve SODS sistemleri birlikte kullanılmıştır. Bu sayede in vitro bakteri ortamında SOED ve SOLD tabanlı dozimetrik metodlar kıyaslanmıştır. Tezin ana iskeleti ve hedefleri Şekil 1.1.’de özetlenmiştir.

Fotodinamik Terapi Tekli Oksijen Molekülü İzleme Uygulamaları için Bütünsel yaklaşım



Katkıları

- Geliştirilen Sistem ile Tekli Oksijen Işımasına ait 1270 nm dalga boyu istenilen genlikte oluşturulmuştur.
- SODS'in Kararlı Ortam Sınırları Belirlenmiştir.
- Karmaşık kimyasal deneyler olmadan ışıma seviyeleri test edilmiştir.

Katkıları

- Yüksek optik güç kararlılığına sahip ışıma modları geliştirilmiştir.
- Geliştirilen Atım tabanlı Modlar ile Termal hasarın önüne geçilmiştir.
- Foto-fiziksel özelliklerin ısıya bağlı olarak değişmesinin önüne geçilmiştir.
- Atımlar arasında oluşan Tekli oksijen molekülü lüminesansının aynı genlik aralığında olması sağlanmıştır.
- Uygulama bölgesinin kararlı yapıda olması sağlanarak saçılma ve emilim gibi parametrelerin kararlı bir aralıkta kalması sağlanmıştır.

Katkıları

- Başarılı bir AmPDT uygulaması gerçekleştirilmiştir.
- Tekli oksijen seviyesi SODS sistemi ile takip edilmiştir.
- SOLD tabanlı ölçümler SOED tabanlı ölçümlerle karşılaştırılarak korele oldukları gösterilmiştir.
- Atım ve Süper atım modlarının uygulama özelinde etkileri ve bakteri ölüm seviyeleri incelenmiştir.
- Atım modları ile foto-fiziksel parametreler değişmeden uygulamanın yüksek başarı ile bakteri ölümüne yol açtığı gözlemlenmiştir.
- Enfeksiyon tabanlı sorunların tedavisi için ilk aşama olan in vitro çalışmaların başarısı ortaya geliştirilen SODS ve MPTL sistemi kombinasyonu ile ortaya koyulmuştur.
- Atımlar arasındaki bekleme süreleri ortamın oksijenlenmesine de katkı sağlayarak Tekli oksijenin hipoksi dolayısıyla üretilememesinin önüne geçmiştir.

Şekil 1.1. Tezde ele alınan problemler, üretilen çözümler ve tezin katkıları

BÖLÜM 2. TEKLİ OKSİJEN MOLEKÜLÜ ALGILAMA SİSTEMİ

Tekli oksijen molekülünün aktif olarak takip edilebilmesi FDT uygulama başarısı açısından büyük önem taşımaktadır [142, 143]. Birçok biyolojik sürecin önemli bir bileşeni olan ve FDT ile kanser tedavisinde sitotoksik bir ajan olarak işlev gören tekli oksijen, moleküler oksijenin yüksek enerjiye sahip halidir [144-150]. Tekli oksijen, belirli bir dalga boyunda bir ışık kaynağı, bir ışığa duyarlılaştırıcı ve moleküler oksijen içeren ışığa duyarlı bir işlemle üretilir [151, 153]. Oksijenlenme özelliği, lokal doku oksijenasyonu, ışığa-duyarlı hale getirme özelliği, FS tükenme katsayısı ve dozimetrik faktörlerin FDT etkinliği üzerinde önemli bir rolü vardır [153, 154].

FDT sırasında oluşan tekli oksijen molekülünün izlenmesi, tedavinin başarılı olup olmadığı hakkında en net bilgiyi verebilmektedir ve altın standart olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, tekli oksijen ölçümü ve takip edilebilmesi tedavi sürecinde çok önemlidir [145, 139, 155]. Terapinin performansını değerlendirmek için bu molekülün miktarı ve yeri dikkate alınmalıdır [156-158]. Etkili FDT için kapalı dozimetri, açık dozimetri ve biyofiziksel / biyolojik doku yanıtı izleme teknikleri geliştirilmiştir [159-161]. SOLD, FDT uygulamaları için önemli bir teknik olarak kabul edilen umut verici bir tekli oksijen takip etme yöntemidir [139, 162-164]. Ayrıca, bu spesifik lüminesans, gerçek tedavi sırasında biyolojik ortamla etkileşime girdiğinde çok kısa bir ömre ve düşük seviyeli kuantum verime sahiptir [165, 166].

Son yıllarda, kızılötesi fotoçoğaltıcı tüp (Infrared Photo Multiplier Tube-IR PMT) ve İndiyum Galyum Arsenik tabanlı Foton Çığ Dedektörler (Single Photon Avalanche Detector- InGaAs SPAD) dahil olmak üzere bir çok cihaz daha başarılı FDT tedavi yöntemlerini oluşturmak için tekli oksijen algılama sistemi olarak kullanılmıştır [167-171]. Bu sistemler daha fazla araştırma yapılmaksızın klinik kullanıma kolayca uygulanabilecek durumda değildirler. Öte yandan, tekli oksijen ömrünün ve dokunun

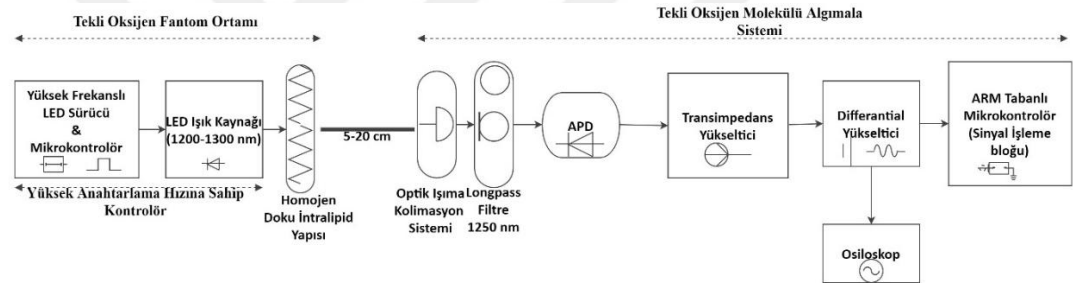
oksijenlenme oranının ölçülmesindeki zorluklar, sistemin klinik maliyetinin yüksek olmasına ve klinik ortamda kolayca uygulanamaz olmasına sebep olmaktadır. FDT sırasında, çok parametrelili eşzamanlı algılama gereklidir. Literatürde, tedavi sürecini araştırmak ve değerlendirmek için çeşitli tek parametrelili tespit yöntemleri kullanılmıştır. Bu yöntemler, tekli oksijen miktarının hücre ömrü ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu doğrular. Bu nedenle, FDT'nin başarısı ve izlenebilirliği, tekli oksijen molekülünün aktif olarak izlenmesi ile sağlanabilir.

Çalışmanın bu bölümünde, yeni bir tekli oksijen molekülü algılama sistemi-SODS geliştirilmiş ve elektronik tabanlı tekli oksijen lüminesans doku fantom ortamı tasarlanmıştır. Önerilen sistem düşük maliyetli, mobil bir sistemdir. Sistem düşük seviyeli ve kısa ömürlü tekli oksijeni yakalayabilme yeteneklerine sahiptir. Bu sistemle yakalanabilecek lüminesans aralığı optik filtrelerin yardımı ile 1270 nm dalga boyuna sabitlenmiştir. Sistemin frekans aralığı 10 ns-15 μ s arasında gerçekleşebilecek ışınımı yakalayacak şekilde tasarlanmıştır. Çalışmanın genel amacına uygun olarak, hedef SODS sistemini kanser tedavisinde kullanılabilmek için tekli oksijen molekülüne bağlı bir fonksiyona sahip hale getirmektir. SODS ve ışık dozimetri kombinasyonu daha başarılı bir tedavi gerçekleşmesinde önemli parametrelerdir. Sistemin başarısı son derece kompleks olan laboratuvar ortamı deneylerinden önce fantom ortamında denenmiştir. Fantom ortamı, FS'nin lüminesans seviyelerinin sınırlarının yapay olarak oluşturulması vasıtasıyla, SOED veya SOLD tabanlı uygulamalara entegre edilebilmesi amacı ile geliştirilmiştir.

Tezin bu bölümü aşağıdaki gibi organize edilmiştir. Bölüm 2.1'de tasarlanan sistemin tüm bileşenleri tanıtılmıştır. Bölüm 2.2'de, önerilen sistemin performansını değerlendirmek için yapılan deneyler ve deneysel sonuçlar verilmiştir. Deney sonuçlarının doğruluğu, Bölüm 2.3'deki matematiksel hesaplamalar ile ispatlanmıştır. Son olarak, Bölüm 2.4'de tezin bir sonraki aşamasına girdi oluşturacak bilgiler toplanmıştır.

2.1. Materyal ve Yöntem

Bu bölümde, fantom bir ortam olarak geliştirilen yüksek hızlı anahtarlama özelliğine sahip ışık kaynağı ve tekli oksijen algılama sistemi ayrıntılandırılmıştır. Hızlı anahtarlama ışık kaynağı iki bileşenden oluşmaktadır. Bunlar; ARM (Advanced RISC Machines) tabanlı mikroişlemci ile kontrol edilen yüksek frekanslı LED sürücü ve 1200-1300 nm dalga boyuna sahip LED ışık kaynağıdır. Tekli oksijen algılama sisteminin elemanları Şekil 2.1.'de gösterildiği gibi optik filtre ve toplama (kolimasyon) lensi, çıkış fotodiyot transimpedans amplifikatörü, diferansiyel amplifikatör ve sinyal işleme bloğundan oluşmaktadır. Önerilen sistemin detayları aşağıda verilmiştir.



Şekil 2.1. Geliştirilen SODS sistemi blok diyagramı.

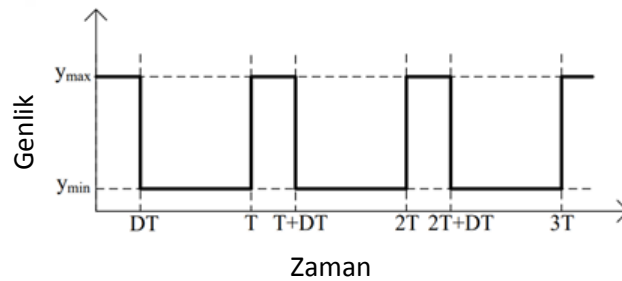
2.1.1. Işık kaynağı tasarımı ve deney fantom ortamının oluşturulması

Fantom ışık yayan tekli oksijen molekülü ARM tabanlı mikro işlemci tarafından kontrol edilmiştir. Tasarlanan sistem DC-216 MHz seviyesinde darbe genişlik modülasyonu (Pulse width modulation-PWM) yapabilmektedir. Yayılan ışık sırası ile 1200-1300 nm ve 1270 ± 15 nm aralığında dalga boyuna sahip olacak şekilde ayarlanmıştır. Işık kaynağı homojen fantom doku intralipid ortamı içerisine yerleştirilmiş ve bu şekilde ortamın gerçek uygulamaya daha yakın olması hedeflenmiştir. Sistem, 0- 216 Mhz frekans aralığında ve tekli oksijen lüminesansının mükemmel bir şekilde taklit edilmesini sağlayan FemtoWatt-MiliWatt optik güç seviyesinde kontrol edilebilme özelliğine sahiptir.

Tasarlanan LED sürücü ARM tabanlı gömülü sistem tarafından kontrol edilmektedir. Gömülü sistemin tasarlanan elektronik karta gönderdiği sinyaller ile yüksek frekanslı PWM'in oluşmasını sağlamaktadır. PWM'in yüksek frekanslı olması sebebi ile yüksek kalitede PWM oluşturulabilmek için kompleks ve özel PWM üretme yöntemleri kullanılmıştır.

PWM, bir referans sinyalinin, belirlenen genişlikte bir sinyal içerisinde gömüldüğü bir tekniktir. PWM iki sinyal gerektirmektedir; darbe dizisine kodlanacak olan modülasyon sinyali olarak da adlandırılan orijinal sinyal ve bir üçgen dalga ya da testere dişi sinyali olabilen taşıyıcı sinyaldir. Ortaya çıkan darbe içeren sinyal dizisine PWM sinyalinin kendisi olan modüle edilmiş sinyal denir. PWM sinyali, modülasyon sinyali ile yüksek frekans taşıyıcı sinyali karşılaştırılarak üretilir.

Şekil 2.2.'de görülebileceği gibi, PWM sinyali, yüksek ve düşük seviyeler arasında geçiş yapan dikdörtgen darbeler içerir. Şekil 2.2., PWM sinyalinin yakından bir görünümünü göstermektedir. Şekilde y_{min} ve y_{max} sırasıyla maksimum ve minimum genlik değeri, T periyodu ve D görev döngü süresini göstermektedir.



Şekil 2.2. D , görev döngülü bir PWM sinyali

PWM sinyalinin ortalama değeri Denklem (2.1) ile hesaplanır.

$$y = D \times y_{max} + (1 - D) \times y_{min} . \quad (2.1)$$

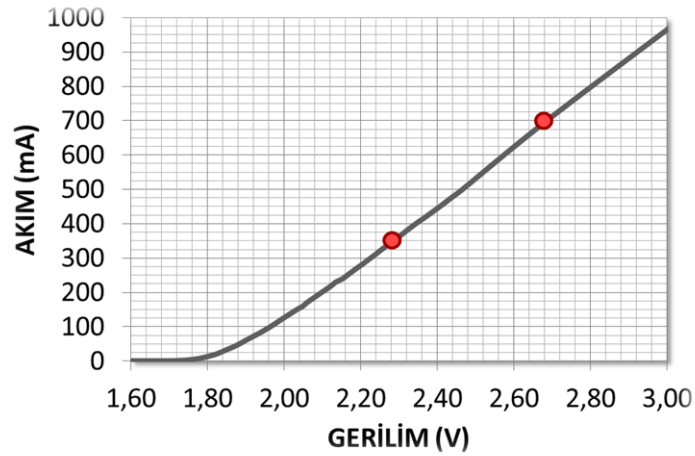
PWM sinyali temel değerleri hesaplanırken, $y_{min} = 0$ alınarak, PWM sinyalinin ortalama değeri $y = D \times y_{max}$ olarak hesaplanmaktadır. Bu ilişki, PWM sinyalinin

ortalama değeri ile görev döngü süresi arasındaki doğrudan ilişkiyi ortaya koymaktadır. PWM sinyalinin ortalama değerini görev döngü süresi ile kontrol etmek mümkündür.

PWM'nin analog devre kullanılarak üretilmesi, PWM için özel tasarlanan bir devre ile gerçekleştirilebilir. Analog uygulamanın dijital olana kıyasla en büyük avantajı, teorik olarak sonsuz olan gelişmiş çözünürlüktür. Temel tasarım zorlukları ise doğrusallık ve yüksek frekanslı taşıyıcı sinyal üretmektir. PWM'nin ayırık seviyede uygulanması, birçok aktif ve pasif bileşen gerektirir. PWM'nin ayırık seviye analog olarak üretmenin bir yolu, örneklenmiş çift kenarlı PWM'in devre gerçekleştirilmesine dayanır. Temel olarak bu tasarım bir hata yükselteci, bir üçgen dalga üretici ve bir karşılaştırıcı içerir. Kritik özellik ise, PWM frekansını belirleyen üçgen dalganın frekansını belirlemektir.

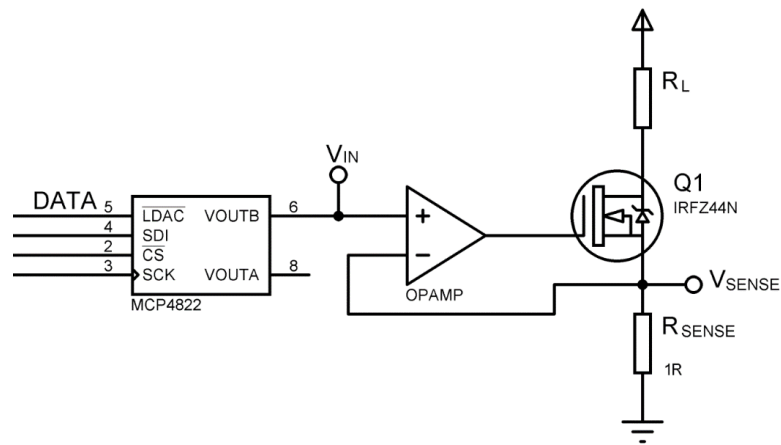
Yüksek frekansta gerçekleşen bu anahtarlamaı tam anlamı ile tekli oksijen molekülünün ömrü seviyesinde oluşturabilmek için mükemmel bir PWM'in oluşturulması gerekmektedir. Oluşturulan bu PWM ile belirlenen LED'ler yüksek frekans aralığında anahtarlanarak tekli oksijen molekülünün ömrü açısından fantom bir ışıma elde edilecektir. Akım kontrolü ise gerekli foton sayısını oluşturmak için çok hassas olarak yapılmak zorundadır. Bu sebeple PWM sinyalinin akım ve frekansı birlikte kontrol edilmiştir.

LED'ler, üzerinden geçen akım ile uç gerilimleri arasında eksponansiyel bir ilişki bulunmaktadır. Şekil 2.3.'te kırmızı noktalarla belirtildiği üzere LED'in geriliminde meydana gelen %8'lik ufak bir değişim (2,27V'dan 2,67V'a) LED'in akımında %100'lük bir değişim (350mA'den 700mA'e) meydana getirebilmektedir. Bu sebeple LED veya lazer diyot (LD) gibi elemanların kontrolünde kararlı akım kaynağı kullanılmalıdır. Bu akım farklı değerlere getirilerek oluşturulacak olan foton sayısı değiştirilebilir. Bu sebeple ışıma sırasında oluşan foton sayısının değişmemesi için yüksek kararlılığa sahip ayarlanabilir akım kaynağı gerekmektedir.



Şekil 2.3. Kırmızı LED'in Akım-Gerilim Grafiği

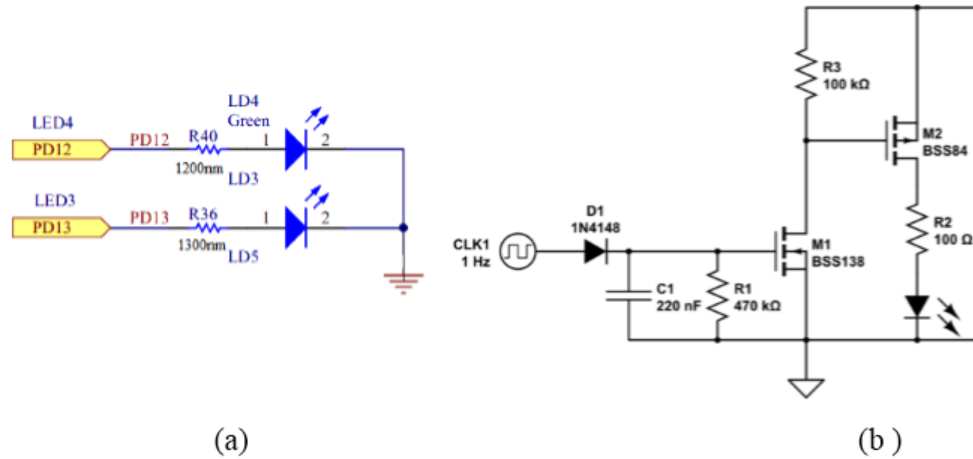
Kararlı bir akım kaynağı devresinin yük üzerindeki akımı sabit tutması gerekmektedir. Doğrudan sabit akım veren bir kaynak olmadığı için akım kaynağının elektronik elemanlarla tasarlanması ihtiyacı doğmaktadır. Şekil 2.4.'te verilen basitleştirilmiş akım kaynağı devresinde anahtar nokta, opampın giriş uçlarının çok yüksek giriş empedansına sahip olması ve opampın çıkış işaretini giriş uçları arasındaki gerilimi sıfır volta eşitleyecek şekilde oluşturmasıdır. Bu devrede opampın giriş uçlarının aynı gerilim değerine sahip olması, R_{sense} direnci üzerinden V_{in} gerilimine bağlı olarak akım akması anlamına gelmektedir. Q1 mosfetinin kapı (gate) ucundan akım akmayacağı için eşik (drain) ve kaynak (source) uçlarındaki akımlar bu sebeple de yük akımı aynı değere sahip olur.



Şekil 2.4. Basitleştirilmiş Sabit Akım Kaynağı Devresi

V_{in} gerilimi dijital analog dönüştürücü (Digital Analog Converter- DAC) yardımı ile 0-5 V aralığında 16 bit hassasiyet ile üretilmektedir. Bu değer akımın 0,1 mA hassasiyetle rahat bir şekilde kontrol edilebilmesi anlamına gelir. Ayrıca DAC içerisindeki kazanç yükselticileri çıkış geriliminin değerini 0-2,047 volt aralığının da 4096 parçaya bölerek akım hassasiyetini 50 uA seviyesine çekilebilmektedir [144].

Şekil 2.5.'de yüksek frekanslı LED sürücü devresi ve LED-zamanlayıcı bağlantısı verilmiştir. LED'ler Şekil 2.5. (a) 'da gösterildiği gibi zamanlayıcının PD12-PD13 pinlerine bağlanmıştır. LED'ler (Thorlabs, 1200L ve 1300E), 10 cm mesafe için sırasıyla 1200 nm'de 5 mW güce ve 1300 nm'de 2 mW güce sahiptir. Optik gücün mesafenin karesi ile üstel olarak değişmesi göz önünde bulundurularak optik güç hesabı yapılmıştır. Belirlenen radyasyon aralığında hızlı anahtarlama için uygun olan basitleştirilmiş yüksek frekanslı LED sürücüsü devre tasarımı, Şekil 2.5. (b) 'de verilmiştir. Sistemin optik gücü, akım kontrolü ile ayarlanmıştır. Optik güç ölçer ve spektrometre (PM serisi güç ölçer, NIR tabanlı optik güç sensörü ve C100 NIR spektrometre, Thorlabs, Almanya) ile kalibre edilmiştir.



Şekil 2.5. a) LED-zamanlayıcı bağlantısı, b) Yüksek frekanslı LED sürücü devresi.

2.1.2. Tekli Oksijen Algılama Sistemi (SODS)

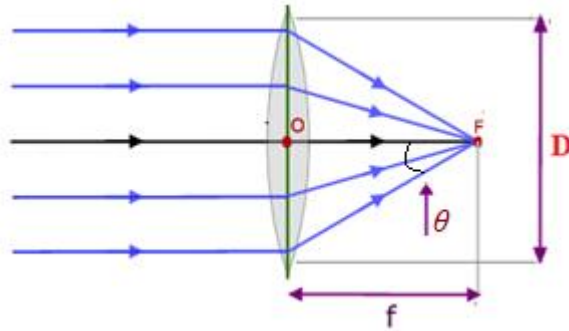
Şekil 1'de gösterildiği gibi, SODS'nin elemanları optik ışık toplayıcı, yansıma önleyici kaplamalı optik longpass (geniş bant) filtre, çıkış fotodiyot, yüksek frekanslı geniş bantlı transimpedans yükseltici, diferansiyel yükseltici ve bir ARM (Advanced RISC

Machines) tabanlı gömülü sistemden oluşmaktadır. Sistemin bileşenleri aşağıda açıklanmıştır.

2.1.2.1. Radyasyon toplayıcı lens sistemi

Radyasyon toplayıcı lens sistemi, optik bir kolimasyon merceği, 900 nm-1600 nm için anti-yansıtıcı (Anti-reflective-AR) kaplanmış sırası ile 1100 nm ve 1250 nm longpass filtreden oluşmaktadır. Bu lens sisteminin amacı, tekli oksijenden kaynaklanmayan ışımaları yok etmek, tekli oksijenden kaynaklanan ışımaları ise kayıpsız olarak çıkış fotodiyotunun orta noktasına ulaştırmaktır.

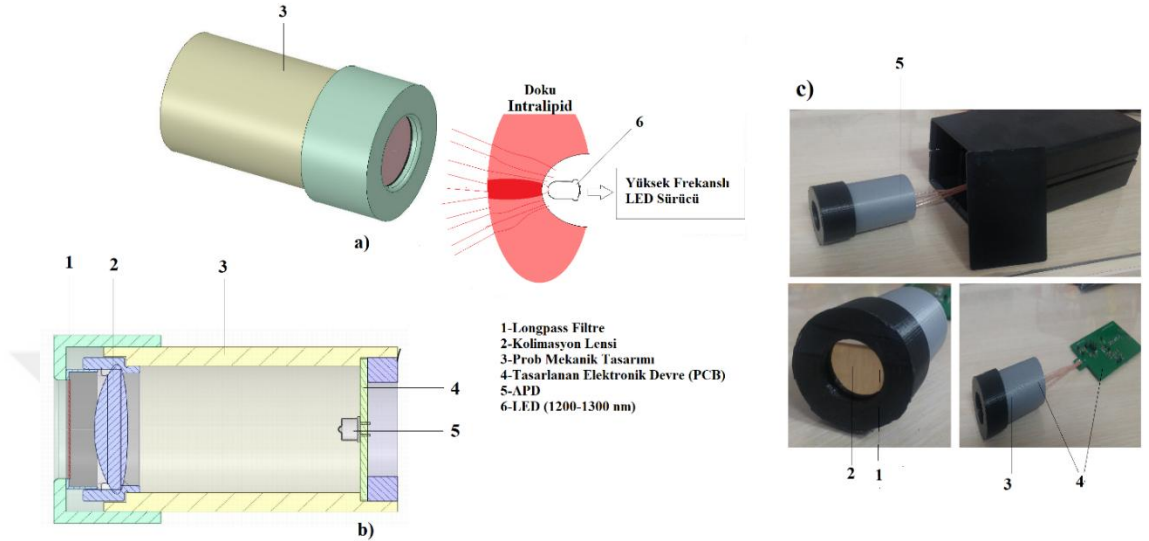
Şekil 2.6.'da, lens ile odak noktası arasındaki optimum mesafeyi belirlemek için kullanılan toplayıcı lens mesafe diyagramı verilmiştir. Şekilde D, ışığı kaynaktan toplayan merceğin yüksekliğidir. Odak uzaklığı f, lens ile odak noktası arasındaki mesafedir. Kaynakların çoğu tüm açılardan yayıldığından, D'nin artırılması veya f'nin azaltılması lensin daha fazla radyasyon yakalamasını sağlayacaktır. F kırılma indisi olarak adlandırılır ve f ve D'nin birbirine olan oranı şeklinde hesaplanmaktadır. Son olarak, θ radyasyon konisinin yarım açısıdır.



Şekil 2.6. Kollektör lens mesafe diyagramı.

Paraksiyal yaklaşım yaygın olarak sadece küçük açılar için ($\leq 15^\circ$) $F = \frac{f}{D}$ şeklinde kullanılmaktadır. F değeri ne kadar küçük olursa, lens tarafından toplanan radyal akı o kadar yüksek olur. Şekil 2.7.'de, SODS sistem tasarımı gösterilmiştir. Şekil 2.7. (a), SODS prob dizaynı ve sistem değerlendirmesi için kullanılan fantom ortamını, Şekil

2.7. (b) ise tasarlanan sistemin iç yapısını (1) Lonpass filtre, (2) kolimatör lens, (3) SODS mekanik tasarımı, (4) Tasarlanan elektronik devre, (5) APD, (6) 1200-1300 nm LED göstermektedir.



Şekil 2.7. Tasarlanan SODS'nin ayrıntılı gösterimi a) SODS probu ve fantom ortamı, b) tasarlanmış sistemin kesit görünüşü, c) sistem modeli.

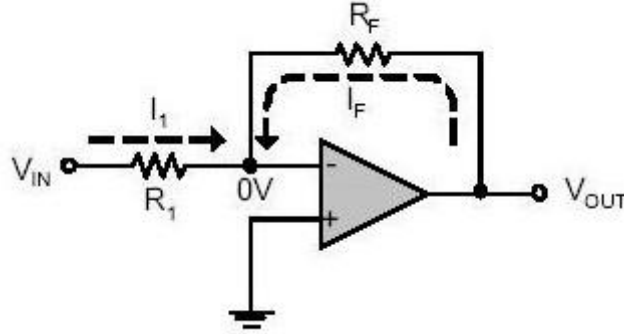
2.1.2.2. Çığ fotodiyot elektronik devre tasarımı

Çığ fotodiyotları (Avalanche Photodiode-APD), diğer fotodiyotların yetersiz kaldığı birçok alanda kullanılabilmelerini sağlayan bazı özelliklere sahiptir. Adından da anlaşılacağı gibi, çığ fotodiyotu, çığ yapısının bazı dezavantajları olmasına rağmen, yüksek hassasiyet gerektiren sistemlerde kullanılabilmektedir. Avantaj ve dezavantajlar göz önüne alındığında, çığ fotodiyotun karakteristiği, gerekli olabilecek ilave hassasiyete ihtiyaç olan özel uygulamalarda kullanılmaktadır. APD, PN veya PIN fotodiyoduna benzer bir yapıya sahiptir. Schottky fotodiyotuna benzer bir çığ diyot yapısı da kullanılabilir, ancak bu ürünlerin kullanımı yaygın değildir. Çığ fotodiyotunun diğer fotodiyot formlarına olan temel farkı, yüksek bir ters eğilim koşulunda çalışmasıdır. Bu, foton-ışık etkisi ile oluşturulan yük boşluklarında elektronların katlanarak çoğalmasını sağlar.

Bir foton, deplezyon bölgesine girdiği sırada elektron çifti oluşturması ile bu yükler birbirine yüksek güçlü bir elektrik alanı ile çekilmektedir. Elektronların sınır bölgeleri ile çarpışma sırasında daha fazla elektron çifti oluşturmaya, katman yapısının izin verdiği ölçüde artmasına sebep olacaktır. Çığ yapısı, APD kazancının birçok kez arttırılmasını sağlar ve çok yüksek bir hassasiyet seviyesi sağlamaktadır. Tekli oksijen kuantum verimi ve ömrü çok kısa olması sebebi ile APD'ler ile tespit edilebilecek seviyededir. Sinyalin alınabilmesi için APD'nin transimpedans yükseltici (Transimpedance Amplifier-TIA) , diferansiyel yükseltici ve filtre yapısı ile birlikte çalışabiliyor olması gerekmektedir.

TIA, giriş akımını orantılı bir çıkış gerilimine dönüştüren bir dönüştürücü devredir. Akım direnç üzerinden geçtiğinde, direnç boyunca akım değeri ve direncinin kendisi ile orantılı olacak bir gerilim düşümü oluşturur. Burada, direncin değerinin ideal olarak sabit olduğunu varsayarsak, gerilim değerine dayalı olarak akımın değerini hesaplamak için Ohm yasası kullanılabilir. Yüksek frekanslı sistemlerde ise empedans hesabı yapılması gerekmektedir. TIA devresi temelinde bir akım-gerilim dönüştürücüsüdür. Öte yandan bir transimpedans yükseltici, giriş akımını orantılı bir çıkış voltajına dönüştürmek için opamp gibi aktif bir bileşen kullandığından, gerilim düşümü kararlılığı açısından aktif bir sistemdir. Bu sayede fiziksel yapısı itibari ile değişen durumlara aktif cevap vererek kararlılık sağlayabilmektedir. APD üzerine düşen ışığa bağlı olarak APD uçları boyunca bir akım oluşur. Çıkış akımını orantılı bir voltaja dönüştürmek için kullanılan opampa paralel bir direnç bağlanması gerekmektedir. Fotodiyot içyapısı itibari ile kapasitif etkiye de sahiptir. Bu sebeple modelleme yapılırken kapasite değeri de hesaba katılmaktadır. Bu sebeple yüksek frekans cevabına sahip fotodiyot devresi tasarlanırken direnç ve kapasite değerlerinin özel olarak hesaplanması gerekmektedir. Bundan dolayı daha düşük bir direnç değeri için, zaman sabiti (t) ($t = \text{algılama direnci} \times \text{kaçak kapasitans}$) küçük olabilmektedir. Kazancın yüksek olma durumunda ise zaman sabitinin direnç değerinden daha yüksek olması ile dengesiz olabilmektedir. Bu eşit olmayan kazanç, sinyal/gürültü oranı, çıkış voltajının salınımlarını arttırarak hassasiyeti azaltabilir. Bu nedenle, zayıf kazanç ve gürültü ile ilgili sorunları gidermek için TIA, diferansiyel yükseltici ve Chebyshev filtresi sırası ile kullanılmıştır.

Sistem tasarımında dikkat edilmesi gereken birçok adım bulunmaktadır. TIA, opampın negatif pinine bağlanan negatif geri beslemeli basit bir negatif yükseltici devresidir. Fakat yüksek frekanslar için içine girdiğinde işlem son derece kompleks bir duruma gelmektedir.

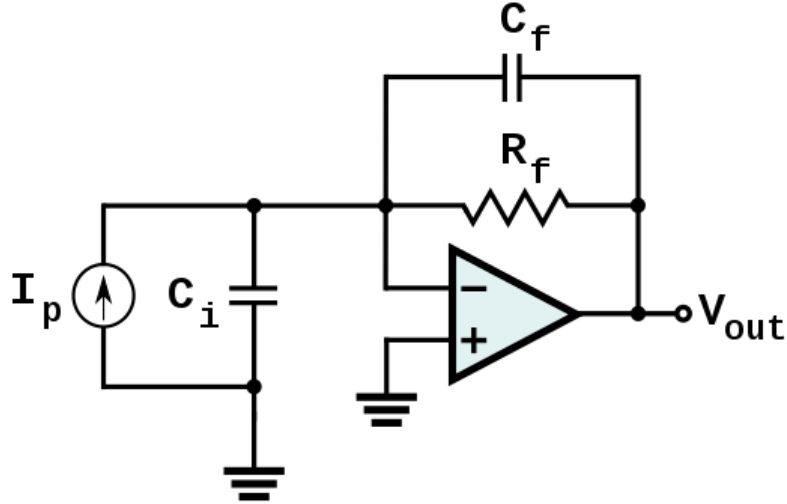


Şekil 2.8 Temel bir akım voltaj dönüştürücü Opamp devresi

Amplifikatörün negatif ucuna bir geri besleme direnci (R_1) bağlanır. Temel bir akım voltaj dönüştürücü opamp devresi Şekil 2.8.'de görülmektedir. Opampın giriş akımının yüksek giriş empedansı nedeniyle sıfır olacağını bildiğimiz için, akım kaynağından gelen akım R_1 direnci üzerinden akmaktadır. Bu noktada, opamp'ın çıkış voltajı (V_{out}) aşağıdaki Denklem (2.2) kullanılarak hesaplanabilmektedir:

$$V_{out} = -I_s \times R_1 \quad (2.2)$$

Bu denklem ideal bir devrede geçerlidir. Ancak gerçek bir devrede, op-amp, giriş pinleri boyunca çıkış sürüklenmesine ve osilasyona neden olarak tüm devreyi dengesiz hale getirebilecek bir giriş kapasitansı ve sürüklenme kapasitesinden oluşmaktadır. Bu sorunun üstesinden gelmek ve TIA'in düzgün çalışması için tek bir pasif bileşen yerine iki pasif bileşen gereklidir. Bu iki pasif bileşen, direnç (R_1) ve buna paralel bir kapasitördür (C_1). Hem direnç hem de kapasitör, aşağıda gösterildiği gibi amplifikatör negatif girişi ve çıkışı arasında paralel bağlanmaktadır. Temel bir transimpedans yükseltici devresi Şekil 3.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Temel bir transimpedans devresi

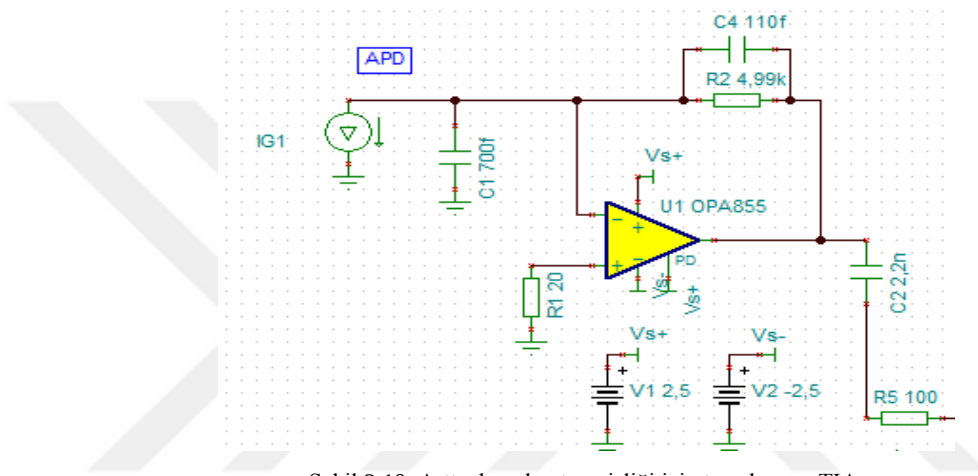
Çıkış gerilimi hem geri besleme direnci hem de geri besleme kapasitörünün C_1 değeri ile ilişkilidir. Devrenin bant genişliği geri besleme kapasitör değeri C_1 'e bağlı olduğundan kapasitör değeri tüm devrenin bant genişliğini değiştirebilmektedir. Devrenin istenilen bir bant genişliğinde kararlı çalışması için, kullanılması gereken kapasitör değeri Denklem (2.3) ile hesaplanmaktadır. Denklemde R_1 geri besleme direnci ve f_p istenilen bant genişliği frekansıdır.

$$C_1 \leq 1/2\pi \times R_1 \times f_p \quad (2.3)$$

Tasarımda, parazitik kapasitans ve TIA kapasitansı, TIA kararlılığında hayati bir rol oynar. Gürültü kazancının çıkışta oluşturduğu cevap faz kayma marjini ve overshoot step (maksimum istenmeyen yükselme oranı) cevabı açısından dengesizlik oluşturabilmektedir ve dikkat edilmesi gerekmektedir.

TIA kazanç, gürültü, hız ve bant genişliği gibi çeşitli parametreler göz önünde bulundurularak sistemin performansını artırmak için tasarlanmıştır. Kazanç artışı, ilk katmanda akım kaynağı kullanılarak yapılabilmektedir. Sistemde kullanılan opamp geniş banda sahip düşük gürültülü ve TIA uygulamaları için özel geliştirilmiştir.

Şekil 3.10.'da verildiği gibi geniş bant genişliğine sahip bir opamp, tasarlanmış TIA bloğunun çekirdeğini oluşturmaktadır. CTRL (kontrol pini) mantıksal bloğu, TIA kazancını yapılandırmak için dahili bir tek kutuplu çift darbe anahtarını kontrol etmektedir. Bu pin ayrıca amplifikatörü doğru bir şekilde dengelemek için gereken dahili geri besleme kapasitesini de etkinleştirmektedir. TIA devresi, 4 GHz kazanç-bant genişliği içerisinde (GBP) 50 KHz -200 MHz bant aralığına sorunsuz şekilde tepki verecek şekilde tasarlanmıştır.



Şekil 2.10. Arttırılmış bant genişliği için tasarlanmış TIA.

APD'nin oluşturduğu akımın TIA ile yükseltilmesinden sonra en ufak bir değişimi algılayabilmesi amacıyla diferansiyel yükseltici ile desteklenmesi gerekmektedir. Tüm opamplar giriş yapılandırmaları nedeniyle diferansiyel yükselteç olarak adlandırılabilir de negatif ve pozitif çıkışa sahip olan opamplar bu uygulama için daha uygundur. Giriş terminallerine bağlanan voltaj sinyallerinin arasındaki fark çıkış sinyalinin karakteristiğini belirlemektedir. Tasarlanan amplifikatör devrelerinde, sistemin frekans aralığı ve bant genişliği standartların dışında olduğundan, yüksek frekans ve geniş bant özelliklerine göre tasarım özelleştirilmiştir. Sistemin duyarlılığı ve geniş tepki spektrumu nedeniyle, devre kartı (Printed Circuit Board-PCB) tasarımı için dirençlerin kapasitif etkileri dikkate alınmıştır. Şekil 2.11.'de tasarlanan diferansiyel amplifikatör bloğu gösterilmiştir. Diferansiyel yükseltici çıkışından sonra oluşan dengesizliklerin engellenmesi ve yüksek frekanslı ışımanın oluşturacağı

Önerilen diferansiyel amplifikatör devresi tasarımında, opampların giriş ve çıkış pinleri yaklaşık 2.5 V'luk bir sabitleme kapasitesine sahiptir. Transformatörler hem empedans uyumu hem de tek uçlu diferansiyel dönüşüm sağlar. Devre, 200 Ohm ve 50 Ohm empedansını eşleştirerek 2: 1 dönüş oranına (4: 1 empedans oranı) sahip transformatörlerle tasarlanmıştır. Dirençler ve transformatör arasına 2.2 nF yük kapasitörü yerleştirilmiştir. 100 Ohm direnç ve 2.2 nF kapasitör kullanılmıştır. Yüksek frekansta tepe noktasındaki dalgalanmayı azaltan ve kararlılığı artıran bir snubber (ters indüktif etki ile denge oluşturma) devresi oluşturulmuştur. Direnç değerlerin çok düşük olması ve kapasitif etkinin de çok hassas olması sebebi ile dirençlerin yüksek frekanstaki parazitik etkileri de hesaba katılmış ve değerler ona göre seçilmiştir. Oluşturulan Chebysehv filtresi ile diferansiyel çıkışta alınan cevabın salınım yapması engellenmiş ve yüksek hızda aktive edilebilme imkânı ortaya çıkmıştır. Tasarlanan devre boyutları 6x8 cm'dir.

2.1.3. ARM işlemci tabanlı sinyal işleme bloğu

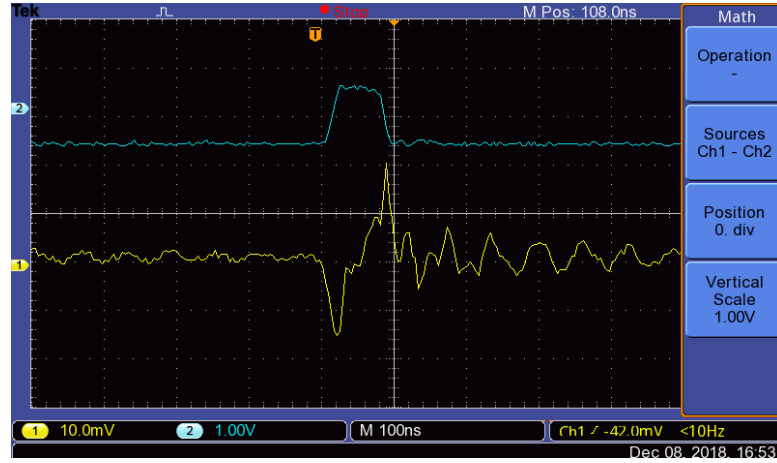
Sinyal işleme bloğu gerçek zamanlı tekli oksijen fosforesans ışımını yakalayabilmek için oluşturulmuştur. Sayısal sinyal işleme diyagramlarının iki arabirimi olan Analog Dijital Dönüştürücü (ADC) ve Dijital Analog Dönüştürücü (DAC), sırasıyla analog işaretleri sayısal ortamda temsil etmek ve istenilen işlemler tamamlandıktan sonra tekrar analog uzaya aktarmak amacıyla kullanılırlar. Sistemimizde, ARM tabanlı sinyal işleme bloğunda algılanması için yeterli seviyeye getirilen tekli oksijen luminesansıdır. Tekli oksijen luminesansının doğru yorumlanabilmesi için en yüksek frekanstan en az 10 kat daha hızlı örnekleme yapılması gerekmektedir. 100 Hertz sinüs dalgası için minimum örnekleme hızı saniyede 1000 örnek olacaktır. Pratikte, 10 kattan bile yüksek örnekleme, zaman alanındaki genliğin doğru bir şekilde ölçülmesine yardımcı olur. Bu sebeple alınan sinyaller osiloskop yardımı ile okunurken, sistem tarafından da Fourier transformu uygulanmış ve bu uygulama sırasında 24 bit ADC kullanılmıştır.

2.2. Deneysel Sonuçlar

Bu bölümde, 1200 nm ile 1300 nm arasında ışıma yapan LED'ler kullanılmıştır. Doku lipitleri içeren bir fantom ortam içerisine LED'ler yerleştirilmiş ve FDT deneylerinin yapısına uyacak yapay bir tekli oksijen ışıması oluşturulmuştur. Bu deneyde amaç, 1270 nm dalga boyuna sahip belirli bir güç ve frekansta yapay bir ışıma oluşturarak, bu ışımayı geliştirilen sistem ile kayıpsız olarak yakalayabilmektir. Işıma dalga boyu 1270 nm olduğundan, geliştirilen sistem deney sırasında gürültü olarak kabul edilen diğer dalga boylarındaki ışımaları filtreleyebilme özelliğine sahip olmalıdır. Ayrıca, kolimasyon merceği sayesinde fW seviyesinde optik gücü ölçmek, daha geniş bir alanda ışıma toplayarak daha hassas ve etkili ölçümler alınmasını sağlamıştır. Sistem, minimum 2-5 fW seviyesinde optik gücü algılama kapasitesine sahiptir. Kolimasyon merceği kullanılması ile ölçülebilen güç 500 fW seviyesinden 2-5 fW seviyesine düşmüştür. Kolimasyon merceği, optik lens ve filtreler sayesinde SODS sistemi daha düşük optik güç düzeylerine duyarlı hale getirmiştir.

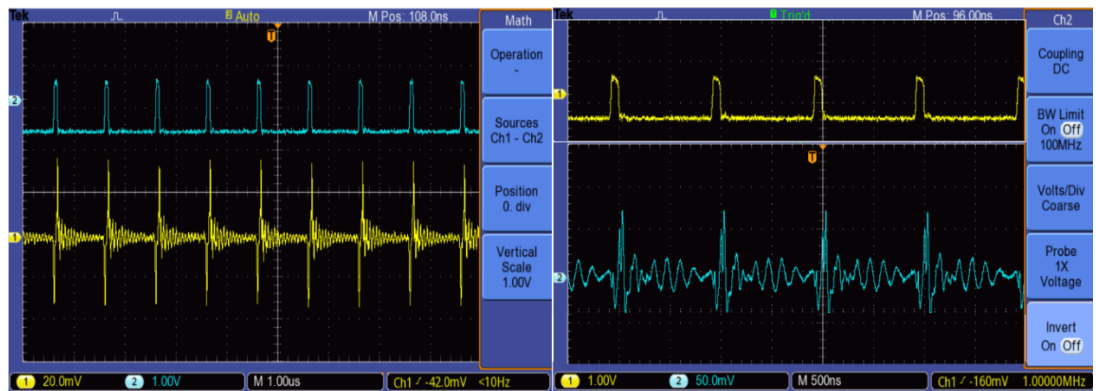
Ölçümler, tekli oksijenin lüminesans ve oluşma ömrüne uygun olarak tasarlanmış SODS kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler sırasında, optik güç ve radyasyon süresi, 10 nW-1 mW ile 20 ns-1 us arasında değiştirilerek farklı deney özelliklerine sahip tekli oksijen ışıma seviyelerine uygun fantom ortamlar oluşturulmuştur. İşaret işleme ve filtremele metotları ile yapılan 2×10^5 'lik yükseltme sayesinde sistemin farklı optik güç seviyelerinde Şekil 2.12.'deki gibi yanıtlar verdiği gözlenmiştir.

İlk deneyde, SODS'un fantom ortamda üretilen 70 ns'lik bir ışıma seviyesine verdiği reaksiyon incelenmiştir. Birçok çalışmada 70 ns ışıma süresinin tekli oksijenin yaklaşık olarak minimum ışıma seviyesine denk geldiği belirtilmektedir [141]. 70 ns ışıma seviyesinin seçilme sebebi budur. Tasarlanan sistemin diferansiyel cevabı Şekil 2.12.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.12. SODS sisteminin 70 ns'lik 1200-1300 nm arasında oluşturulan lüminesansa verdiği sistem cevabı.

İkinci deneyde ile tasarlanan sistemin gürültü altındaki performansı incelenmiştir. Sistemin optik gürültüye karşı verdiği tepkinin güçlü olmasını sağlamak amacı ile, SODS'de 1250 nm'lik longpass optik filtre kullanılmıştır. Optik filtre eklenen sistemde, SODS sisteminin 50 fW'lık, 70 ns (1200-1300 nm) süreli ışınım için, optik gürültü altında ve optik gürültünün giderilmesinden sonra tepkisi Şekil 2.13'te verilmiştir. Deney sonucu elde edilen gözlemlere göre 5 fW-1 nW'lık bir optik güce sahip olan darbelere verdiği cevaplar, frekans açısından aynı iken değişen optik güçler, sistem çıkışındaki genlik değerlerinin değişimine neden olmaktadır. Oluşturulan sinyal ve algılanan sinyal sinyal dalga şekilleri Şekil 2.12. ve 2.13.'te gösterildiği gibi birbirine çok yakın bir şekilde kayıt edilmiştir.



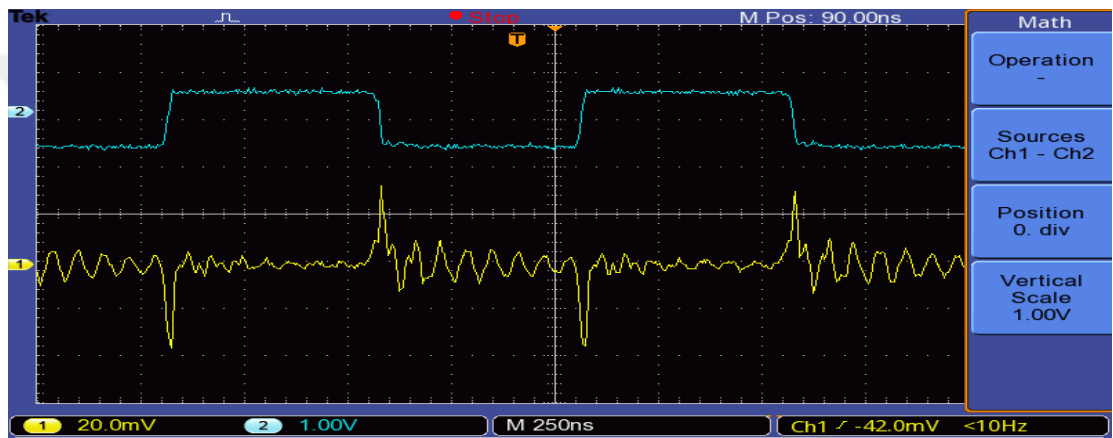
(a)

(b)

Şekil 2.13. SODS sisteminin 70 ns (1200-1300 nm) süreli ışınım için, a) optik gürültü altında ve b) Longpass filtre sonrası sistem cevabı

Şekil 2.13.'te mavi sinyal oluşturulan ışımaları ve sarı sinyal ise SODS sisteminin cevabını göstermektedir. Şekilde görülebileceği gibi, optik filtreler kullanılarak, istenen sinyalden farklı dalga boyunda optik güce sahip gürültü bileşenleri elimine edilmiştir. Deneyler sırasında, LED kaynağı ile optik ışık toplayıcı arasındaki mesafe 5 cm olarak belirlenmiştir.

Aşağıdaki deneyde, sistemin daha uzun süreli darbelere karşı performansı incelenmiştir. Sistemin diferansiyel yanıtı darbelerin yükselen ve düşen kenarlarında da ölçülmüştür. Ölçülen sinyaller Şekil 2.14.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.14. Daha uzun süreli ışımalara karşı (500 ns) SODS sistem cevabı.

Yapılan deneylerle SODS sisteminin fantom ortamda sınırlarının belirlenmesi ve hassasiyet testleri tamamlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, sistemin 50 KHz- 200 MHz arasında kısa bir ömrü olan bir lüminesans aralığını (2fW-mW) ölçebildiği görülmüştür. Fantom ışık kaynağı ile SODS arasındaki mesafe 5 cm ila 20 cm arasında değiştirilerek, tasarlanan sistemin mobil ve farklı durumlara uygun olduğu gösterilmiştir. Gerçekleştirilen deneyler birden fazla kere denenmiş kararlılık açısından incelenmiş ve yapılan deneyler sonucunda her deney sonrası aynı ışıma alınması ile sonuçlar kaydedilmiştir. Sistemin kayıt altında teknik hatalardan arındırılması ve çevresel faktörlerin belirlenmesi açısından deneyler tekrarlanarak alınan kararlı veriler sunulmuştur.

2.3. SODS Ölçümlerinin Doğrulanması

Yapılan deneyler vasıtasıyla SODS sisteminin, farklı optik güçlere ve sürelerle sahip farklı ışınlamaları ölçebilme özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir. Işıma fantom ortamda oluşturulurken tekli oksijen ışımasının çok düşük seviyelerde oluşması sebebi ile, yakalanan sinyalleri anlamlandırılabilmek amacıyla tasarlanan TIA ve diferansiyel yükseltici tarafından güçlendirilmiştir. Bu bölümün amacı SODS sisteminden elde edilen sonuçların matematiksel olarak doğrulanmasıdır. Bu amaçla, bir dizi matematiksel analiz yapılmıştır. Analizde, fantom ışık kaynağı tarafından üretilen tekli oksijen lüminesans yoğunluğu matematiksel denklemler kullanılarak hesaplanmıştır. Daha sonra yoğunluk değeri APD yüzeyi üzerinde deneysel olarak ölçülmüş ve matematiksel sonuçlarla deneysel sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Işık kaynağı tarafından üretilen ve APD yüzeyine düşen foton sayısını hesaplayabilmek için ışıma akı seviyesi (intensity) hesaplanmalıdır. Matematiksel hesaplamalar sırasında açı, alan, mesafe, intensity ve optik güç dikkate alınmıştır [172-173]. Literatüre göre, belirlenen bölgeden geçmesi beklenen foton sayısını elde etmek için kullanılan optik güç seviyesi tipik FDT uygulamalarında tekli oksijen için ışık optik gücü 0,05 pW'dir [159-161, 174].

Bir yüzeyde yayılan ışıma yoğunluğu (I_n) aşağıdaki gibi ifade edilebilir:

$$I_n = \frac{\varepsilon G T^4}{\pi} \quad (2.4)$$

Denklem (2.4) 'de G, Stefan-Boltzmann sabiti ($5,67 \times 10^{-8} \text{ W/m}^2 \text{ K}^4$), T mutlak sıcaklık ve ε yayılan dalga boyuna ait bir fonksiyonu olan emisivite özelliğidir. Bununla birlikte, tezde, LED tarafından üretilen radyasyonun özellikleri kullanılarak intensity yoğunluğu hesaplanmıştır. Bu hesaplama için Denklem (2.5) 'de verilen foton enerji eşitliği kullanılmaktadır.

$$E = h \cdot c / \lambda \quad (2.5)$$

Burada c ışık hızı, λ dalga boyu ve h Planck sabiti ile tanımlanmaktadır. $f = c / \lambda$ olduğundan, denklem (2.5) aşağıdaki gibi yeniden yazılabilir:

$$E = h \cdot \nu \quad (2.6)$$

Tekli oksijen için parametre değerleri şunlardır: $\lambda = 1270$ nm, $f = 236057,0535$ GHz ve foton enerjisi 0.9763 Ev olarak elde edilmiştir. Bir fotonun enerjisi hesaplandıktan sonra APD yüzeyindeki toplam enerji elde edilmelidir. Bu amaçla, Denklem (2.7)'de verilen yoğunluğa dayalı ters kare yasası uygulanır [174].

$$I = \frac{1}{2\mu_0 c} E^2 \quad (2.7)$$

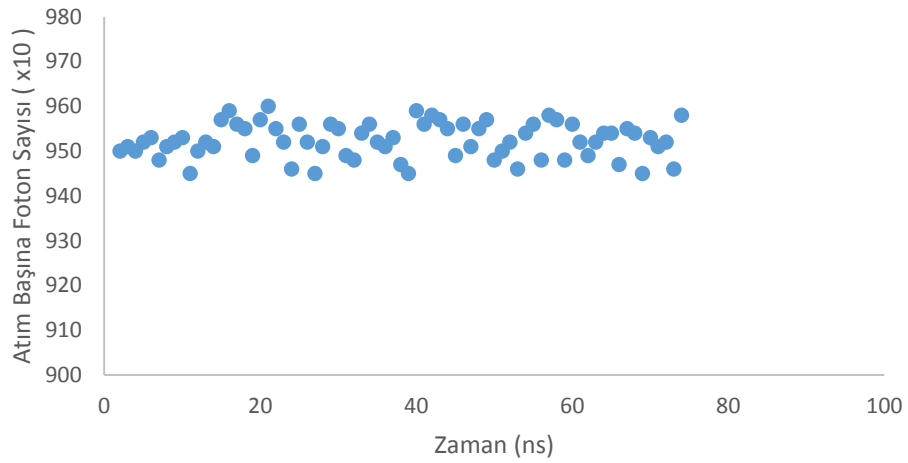
Burada μ_0 sabit bir değer ve E ise hesaplanan foton enerjisidir. Hesaplamalar yapılırken, ışınım sonucunda üretilen ve belirlenen mesafeden APD'nin hassas alanına ulaştığı tahmin edilen foton sayısı üzerinden ilerlenmiştir. Ayrıca, hesaplamalar açı, alan, mesafe, intensity ve optik güç dikkate alınarak yapılmıştır.

Yapılan matematiksel analizler ışığında, ışık kaynağı ile APD yüzeyi arasında 5 cm'lik bir mesafede, tekli oksijen lüminesans yoğunluğunun fW seviyesinde 8500 (foton sayısı) olduğu bulunmuştur. APD yüzeyine düşen foton sayısı, APD yükseltme katsayısına uygun olarak hesaplanmıştır. Bir foton, fotodiyotun aktif bölgesine çarparsa, bileşenin kuantum verimliliğine bağlı olarak bir elektron deliği çifti oluşturmaktadır. Kuantum verimi birçok faktöre bağlıdır. Ancak foton enerjisi enerji boşluğundan parça koparacak seviyede olması durumunda bu fotonlar, foton hareket enerjisini elektron parçacıkları aracılığıyla elektrik akımına dönüştürmektedir.

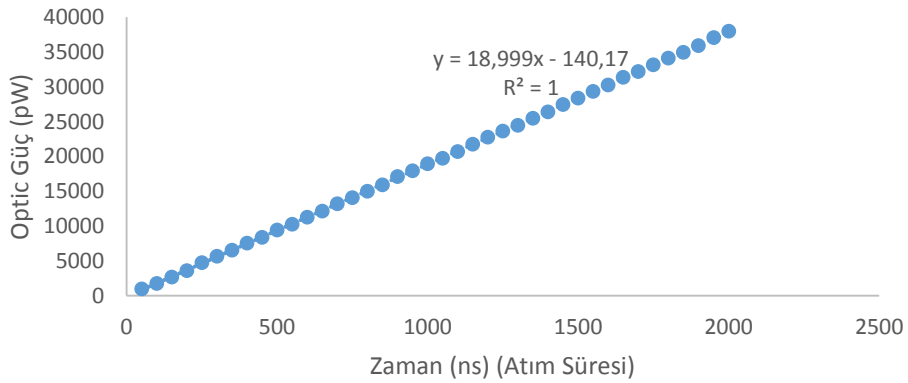
Fotodiyodun dalga boyu ile spektral özelliklerindeki değişim, kuantum etkinliği ile açıklanmıştır. Silikon ve InGaAs'lar gibi yarı iletken malzemeler farklı enerji boşluklarına sahiptir. Sonuç olarak, farklı dalga boylarında farklı kuantum verimleri vardır, bu da malzeme tipine özgü spektral duyarlılık profilleri ile sonuçlanır. Yüksek hassasiyetleri ve düşük gürültü davranışları nedeniyle yarı iletken fotodiyotlar düşük seviyeli ışınım ölçümleri için idealdir. SODS sisteminin fotonlara verdiği cevaba dair

voltaj gerilimi [175-177] referanslarından yararlanarak hesaplanmıştır. Sistemi etkileyen Johnson ve Shot gürültüsü [178] no'lu referans kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm sistemin gürültü bileşenleri de deneysel olarak standart çalışma halinde ölçülmüştür.

İlk olarak tekli oksijen lüminesans yoğunluğunun hesaplanmasını sağlayan SODS sisteminin voltaj çıkışı ölçülmüştür. Daha sonra yapılan deneyler ile kaydedilen gürültü bileşenleri sistem cevabından çıkarılmıştır. Son olarak, intensity değeri 8000 ve 12000 (foton sayısı) arasında 9500 ortalama değeri ile ölçülmüştür. Şekil 2.15.'te, 50.000 atım için ölçülen ortalama yoğunluk değerleri gösterilmiştir. Şekilde görülebileceği gibi, sistem tekli oksijen luminesansı için tutarlı sonuçlar vermektedir.



Şekil 2.15. 70 ns'lik ışıma süreleri için ölçülen ortalama yoğunluk değerleri



Şekil 2.16. Farklı ışıma atım süreleri için SODS'un optik güç tepki değişimi.

Son olarak, sistem doğruluğu tekli oksijen fantom ortamında farklı ışıma süreleri için test edilmiştir. Farklı darbe süreleri için SODS'un optik güç tepkileri Şekil 2.16.'da gösterilmektedir. Ölçümler, önerilen sistemin farklı ışımalara karşı kararlı bir tepki ile yanıt verebileceğini göstermektedir. Fantom ortam yapay tekli oksijen ışımasını tutarlı bir şekilde taklit edebilmiştir. Ayrıca, önerilen fantom ortamı, küçük bir ayarlama ile farklı doku fantomu gibi davranabilir hale getirilebilmekte ve yeni geliştirilen sistemlere kolayca uygulanabilme özelliğine sahiptir.

2.4. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Tezin bu bölümünde FDT sırasında tekli oksijen lüminesansını tespit etmek için kullanılabilecek bir sistem geliştirilmiştir. Sistemin performansı, matematiksel analiz ve fantom ortam ölçümleri yapılarak değerlendirilmiştir.

Fantom ortamda deneyler, illimunasyon seviyesine ve tekli oksijenin ömrüne göre üç grupta gerçekleştirilmiştir. İlk deneyde, SODS'un 70 ns süresince gerçekleşen farklı seviyedeki ışıma sürelerine cevabı incelenmiştir. Tekli oksijen ömrünün 10 ns ile birkaç μ s arasında değişmesi nedeniyle, literatürde mevcut olan çalışmalara benzer şekilde performans değerlendirmesi yapabilmek amacıyla deneylerin 70 ns ışıma sürelerinden başlanarak yapılması tercih edilmiştir. Deney 1'de elde edilen sonuçlara göre, tasarlanan sistem bu ışıyımları kararlı bir şekilde algılayabilmektedir (Şekil 2.13.-2.14.). Deney 2, SODS'un optik gürültü altındaki sistem cevabını incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. 1250 nm ve 1100 nm longpass optik filtrenin entegre edilmesi ile, sistem optik gürültüleri elimine edebilmiştir. Bu sayede, tasarlanan sistemin gürültü altındaki 70 ns'lik ışıyımlara cevabı kaliteli bir şekilde alınabilmiştir (Şekil 2.12.).

Deney 3'de, sistemin performansı daha uzun süreli darbeler için test edilmiştir. Sisteme 500 ns süreli darbe uygulanmış ve sistemin diferansiyel cevabı ölçülmüştür (Şekil 2.14.). Ayrıca, 50.000 atım için ölçülen ortalama yoğunluk değerlerinin, önerilen sistemin tekli oksijen ile aydınlatma için tutarlı sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Şekil

16.). Son olarak; sistem doğruluğu tekli oksijen fantom ortamında farklı ışıınım süreleri için test edilmiştir. Bu amaçla, darbe süreleri 50 ns'den 2000 ns'ye kadar değiştirilmiş ve karşılık gelen optik güç değerlerinin ışıınım süresi ve genlik seviyelerine olan tepkisi ölçülmüştür. Ölçümler, önerilen sistemin farklı ışıınım sürelerine karşı kararlı bir cevap üretebildiğini göstermiştir. Yapılan tüm deneylerin sonuçları SODS sisteminin tekli oksijen ışıınının doğasına uygun bir şekilde ölçümlerde kullanılabileceğini göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda tedavi amaçlı kullanılan FDT ışık kaynakları ile kombine bir şekilde FDT uygulamalarında kullanılabileceğini teknik olarak göstermektedir. Farklı ışıınım sürelerine gösterdiği tepkilerin ölçüldüğü deneyler ile SODS tarafında ölçülen fantom tekli oksijen lüminesans yoğunluğu ile FDT uygulamalarında oluşan ışııma seviyelerinin birbiri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Ayrıca, matematiksel hesaplamalar ile yoğunluk değerine dayalı deneysel ölçümler arasında bir karşılaştırma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, deneysel ve matematiksel olarak hesaplanan tekli oksijen ışımasına ait intensity değerlerinin uyumlu olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmanın özgün yönleri ortaya koymak amacıyla çalışma, literatürdeki en benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. N.R. Gemmell ve ekibi 2013 yılında tekli oksijen lüminesansını izlemek amacıyla bir çalışma yayınlamıştır [165]. Bu çalışmada, FS çözeltisine uygulanan ışııma sonrası (Rose Bengal) 1270 nm dalga boyunda tekli oksijen lüminesansını kaydetmek için düşük gürültülü, süper iletken nanowire tek foton (SNSPD) yakalayıcı sistem kullanılmıştır. Sistem, korumalı fiber ile entegre (couple) edilerek kullanılmıştır. Fiber optik kabloların doğal özellikleri nedeniyle, iletim sırasında optik kayıplar olmaktadır. SODS'nin yapısında, tekli oksijen ışıması toplanarak fiber optik kablolar yerine doğrudan APD yüzeyine odaklanmaktadır. Sistem bu sayede optik kayıpların önüne geçmektedir. Ayrıca, SNSPD foton tespiti için kullanılan uygulamadan bağımsız genel amaçlı bir cihazdır. Önerilen SODS sistemi, düşük lüminesans ve yüksek frekanslı tekli oksijen molekülü tespiti için özel olarak geliştirilmiştir. N.R. Gemmell ve ekibi tarafından 2017 yılında yapılan bir diğer çalışmada yazarlar SNSPD sistemlerini tek fotonlu çığ fotodiyot (SPAD) kullanarak geliştirmiştir [166]. Işııma yakalama hızı ve sinyal / gürültü oranı açısından toplam sistem performansı, önceki çalışmada olan SNSPD sistemine göre

50 kat iyileştirilmiştir. Fakat, fiber optik kabloların kullanılmasından kaynaklanan optik kayıplar performans açısından bir sorun olarak görülmektedir. Çalışma, tezde önerilen çalışmaya oldukça benzer ve FDT araştırması için umut verici bir çalışma olmasına rağmen, sistemin maliyetinin klinik uygulamalar için çok yüksek olduğu görülmektedir (~ 21.000 €). SODS'un katkılarında bir diğeri, daha düşük maliyeti (~ 1200 €) sayesinde klinik araştırmalar için kullanılabilir olma potansiyelidir. Boso ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, NFAD (Negatif Geribildirim Çığ Diyot) detektörüne sahip tekli oksijen molekülü tespit eden pratik bir sistem tasarlanmıştır [167]. NFAD sisteminin frekans aralığının 1 Hz ile 20 MHz arasında olması sebebi ile, tasarlanan yeni nesil lazerler ile kullanılmasının mümkün olması zor görülmektedir. Sunulan tasarımda, 50 KHz ile 200 MHz arasındaki sinyaller ölçülebilmektedir. Bu frekans aralığı, yeni tip FDT lazer sistemleri ile uyumludur. Buna ek olarak, gürültü etkilerinin üstesinden gelmek için optik ve elektronik filtreler uygulanmıştır. Ek olarak, [167] referansında yapılan çalışmada, tüm sistemin performansını değerlendirmek için hazırlık aşaması zor olan kimyasal bazlı fantom sistem geliştirilmiştir. SODS'da, ayarlanabilir aydınlatma seviyelerine sahip olan ve herhangi bir hazırlık aşaması gerektirmeyen elektronik fantom sistemi sayesinde tekli oksijen ışınması yakalama kapasitesini daha hızlı ve daha doğru bir şekilde değerlendirilebilme şansına sahiptir. Literatürde bildiğimiz kadarı ile, bu çalışma Femtowatt düzeyinde optik performans ile bir fantom bir ortam ile denenen ilk çalışma olarak geçmektedir.

Tezin bu kısmında yapılan çalışmanın katkısını ve özelliklerini özetlemek amacıyla bir karşılaştırma tablosu verilmiştir. Tablo 2.1.'e göre aşağıdaki yorumlar yapılabilir.

Tablo 2.1. Önerilen çalışmanın mevcut çalışmalarla karşılaştırılması.

Referans	Sistem	Bantgenişliği	Verimlilik	Aktif Algılama Bölgesi	Fiber Optik Kablo	AR Kaplama	FDT için özel tasarım	Klinik Potansiyel	Maliyet €
[179]	InGaAs Kamera	-	> 30-50%	> 10x10 mm	No	No	No	Orta	>10.000
[180-183]	PMT	DC-GHz	< 1%	> 10 mm	No	No	No	Düşük	>50.000
[184-186]	SPAD	DC-100KHz	>50%	20 µm – 500 µm	Yes	No	No	Orta-yüksek	>20.000
[165]	SNSPDS	> 10GHz	>50%	10 µm – 300 µm	Yes	No	No	Düşük	>20.000
[167,187]	NFAD	DC- GHz	>10%	10 µm – 500 µm	Yes	No	No	Nispeten Yüksek	>5.000
Sunulan Çalışma	SODS	100kHz-200 MHz	>50%	4 mm	No	Yes	Yes	Nispeten Yüksek	>1.000

Tekli oksijen luminesansını yakalamak için bu alanda, genel olarak NIR fotoçoğaltıcı tüpler ve yeni geliştirilen InGaAs kameralar foton dedektörleri olarak kullanılmaktadır. InGaAs kameralar harici bir elektronik devre ve bir foton tetikleyici içermektedir. Ancak geniş bir aktif alana (> 10 mm x 10 mm) ve yüksek bir verime (>% 30-50) sahip olmalarına rağmen, kameraların görüntü alma hızı tekli oksijen luminesans ömrü ile tam olarak örtüştürülememektedir [179]. Aynı şekilde PMT'ler de sıklıkla tekli oksijen luminesans tespiti için kullanılmaktadır [180-183]. Temel avantajları, geniş algılama alanına sahip olmaları sebebi ile fotonları toplamayabilmeleri (> 10 mm) olarak belirtilmiştir. Bununla birlikte, çok düşük kuantum verimi (<% 1), orta seviye gürültü (> 10000 cps), ve yüksek hassasiyete sahip foto-katot (ortam ışığı tarafından bozulabilir), dedektörün kontrolünün zor olması ve ölçüm sırasında gürültü olarak gelen ışımaları bastıramaması gibi birçok dezavantajı vardır. Yeni geliştirilen SPAD'ler, daha yüksek kuantum verimleri, daha düşük gürültü hassasiyeti, kararlılığı, basit kullanım ve diyafram kullanabilme yapısı nedeniyle tekli oksijenin saptanması için kullanılmıştır [184-186]. Ancak, SPAD'lerin gated-mod (anahtarlamalı kapı modu) çalışması, geniş ışımaya aralığı (> 40 ns, in vivo > 3 µs) nedeniyle NIR dalga boyu aralığındaki tekli oksijen luminesansı ile etkileşime

girme açısından düşük performans sergilemiştir [187, 188]. SNSPD, FDT uygulamaları için alternatif bir ölçüm sistemini temsil etmektedir. Ancak klinik adaptasyon, boyut, maliyetler ve kullanımdaki zorluklar nedeniyle oldukça sınırlı görünmektedir [165].

Tablo 2.1.'in son satırı önerilen çalışmanın önemli noktalarını listelemektedir. Sistemin ana avantajı, FDT deneylerinde kullanılabilir olmasını sağlayan düşük maliyetidir. Ek olarak sistem; verimliliği, yansıma önleyici kaplamaya sahip optik kolimatörü ve filtreleri ile tekli oksijen molekülü için özel bir tasarıma sahiptir. Bu sayede, klinik kullanım için potansiyeli oldukça yüksektir. Geliştirilen SODS'in klinik uygulamalarda nasıl bir performans sergileyeceğini incelemek amacıyla sonraki bölümde laboratuvar ortamı hakkında çalışmalar sunulmuştur.

Referans [141]' de ise, doğrudan SOLD ölçümleri Photofrin ve SPAD kullanılan bir fantom ortamı için tekli oksijen açık dozimetrisi (SOED) hesaplamaları ile karşılaştırmıştır. Oksijen ve FS konsantrasyonu ölçümleri, SOED modelini doğrulamak için hesaplamalar ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, SOLD ve SOED arasında doğrudan bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, sistem özel olarak geliştirilmiş tekli oksijen ölçüm sistemi kullanılarak daha da geliştirilebilir görülmektedir. FDT tedavileri için çeşitli sistemler geliştirilmiştir ve bu ekipmanların hata yapıp yapmama durumunun kontrollü bir ortamda test edilmesi önemli bir durumdur. Sistem sınırlamaları, karmaşık laboratuvar ekipmanı kullanılmadan elektronik tabanlı fantom ortam ile araştırılabilir hale gelmektedir. SOED tabanlı tekli oksijen dozimetri modeli, ortamın birebir taklit edilmesi ile fantom ortamda kimyasallar ve karmaşık laboratuvar ekipmanı kullanılmadan SOLD tabanlı ölçümlerle karşılaştırılabilir hale gelmektedir. Fantom ortam, laboratuvar ekipmanlarının kullanılmasını ve kullanıcı bazlı hataları önleyerek daha kararlı ışık seviyesi ölçümleri sağlamaktadır.

Bunun dışında, kararlı ölçümlerin alınabilmesi için kararlı bir ışık kaynağının kullanılması düzgün tekli oksijen lüminesans ölçümleri alabilmek için şart olarak görülmektedir. Kullanılan ışık kaynağının kararlı bir çıkışa sahip olmaması durumunda tekli oksijen lüminesans değerindeki değişimlerin, oksijen azalmasından

mı, ışık kaynağından mı kaynaklı olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bu sebeple bir sonraki bölümde SODS sistemi ile birlikte kullanılabilecek kararlı bir ışık kaynağı geliştirilmiştir.



BÖLÜM 3. ÇOK IŞIMA MODLU LAZER FDT IŞIK KAYNAĞI GELİŞTİRİLMESİ

Kararlı bir ışık kaynağının ışıma modları içerecek şekilde geliştirilmesinde ön plana çıkan amaçlar sırası ile termal hasarın azaltılması, tedavi sonrası rahatsızlığın azaltılması, oksijenlenmenin artırılması ve her bir ışık atımı sonrası şartların sağlanması durumunda aynı seviyede tekli oksijen molekülü üretilmesidir. Kararlı bir ışık kaynağının tedavi sırasında kullanılması alınan tekli oksijen molekülüne bağlı lüminesans sinyallerinin kararlı bir şekilde alınması ve bu sinyalin azalma anlarının belirlenmesi açısından son derece önemli görülmektedir. FDT tedavilerinde tekli oksijen molekülü izlenmesi sırasında ışık kaynağından kaynaklı gürültülerin de elimine edilmesi gerekmektedir. Işığın atım modlarının kapanma zamanlarında anlık olarak tekli oksijen molekülü ölçümü mantıklı bir yaklaşım olarak görülmektedir. Işık kaynağının kararlı olması her bir atım sonrası oluşan tekli oksijen molekülü miktarının kararlı bir şekilde alınmasını sağlamaktadır. Alınan bu sinyallerin zaman domeninde alınan integrali, kümülatif tekli oksijen miktarının net olarak elde edilmesini sağlamaktadır. Bu kapsamda birçok farklı FDT ışık kaynağı geliştirilmiştir.

Tezin bu bölümünde tekli oksijen molekülünün alınmasını kolaylaştırırken bahsedilen diğer birçok avantajı da sağlayacağı öngörülen çok modlu lazer ışık kaynağının geliştirilmesi hedeflenmiştir.

FDT'de FS'leri aktive etmek için lazerler, halojen, ksenon ve LED'ler ışık kaynağı olarak aktif olarak kullanılmaktadır [143]. Ancak, maliyet diğer alternatiflere göre daha yüksek olmasına rağmen, lazerler öne çıkmaktadır [152, 189, 190]. Lazerlerin öne çıkmasının ana nedenlerden biri, lazer ışığının optik fiberden kolayca iletebilmesidir. Bu nedenle lazerlerin, fiber optik kablunun ucuna yerleştirilen lensler kullanılarak çok küçük çaplı tümörlere ve tedavi bölgelerine ışığı taşıyabilmesi mümkün olmaktadır. Lazer sistemleri FS aktivasyon spektrumunun en etkili olduğu

tepe noktasını en net olarak sağlayabilen ışık kaynaklarıdır [146, 148]. FDT helyum-neon, diyot, argon ve KTP (mavi-yeşil spektrum, kristal bazlı) lazerler gibi farklı lazer türleri kullanılmıştır. Diyot lazerler de çok tercih edilen lazer türlerindendir. Diyot lazer tercihinin sebebi diğer tiplere kıyasla cihazların daha küçük boyutlarda yüksek teknoloji ile üretilmesini sağlamalarıdır. Diyot lazerlerde görünür ve kızılötesi bantta üretim yapısına göre belirlenen dalga boyunda ışıma üreten yarı iletkenler kullanılmıştır [191, 192].

Buna rağmen, FDT lazer sisteminin bazı tasarım zorlukları vardır. LD'ler ışıma sırasında istenen dalga boyunda ışıma yapabilmesi için belirli bir sıcaklıkta stabilize edilmelidir. Sıcaklık kontrol sistemlerinin tasarımı farklı radyasyon modları içeren lazer sistemler için teknik bir zorluktur. Analog ve yazılımsal kontrol yöntemleri ile bir termoelektrik soğutma sistemi (thermoelectric cooling-TEC) FDT lazer sistemine entegre edilerek gerçekleştirilebilmektedir [8, 16-18]. Bu zorluklara ek olarak, tedavi sırasında sürekli ışıyım modunda çalışan lazerler uygulama bölgesinde doku hasarına ve LD'nin kendisinde termal hasara neden olmaktadır. Işıyım modları, geri dönüşü olmayan termal hasarın azaltılması ve dokudaki oksijen konsantrasyonunun artırılması için de kullanılabilmektedir [122, 193, 194]. Optimal lazer sistemi, yüksek optik enerji verme durumunda dahi termal hasarı azaltacak, tekli oksijen molekülünü lüminesansını izlemeye imkan sağlayacak ve oksijenlenmenin pozitif etkisinin tedavi sırasında görülmesini sağlayacak şekilde tasarlanmalıdır [195, 196, 114, 117].

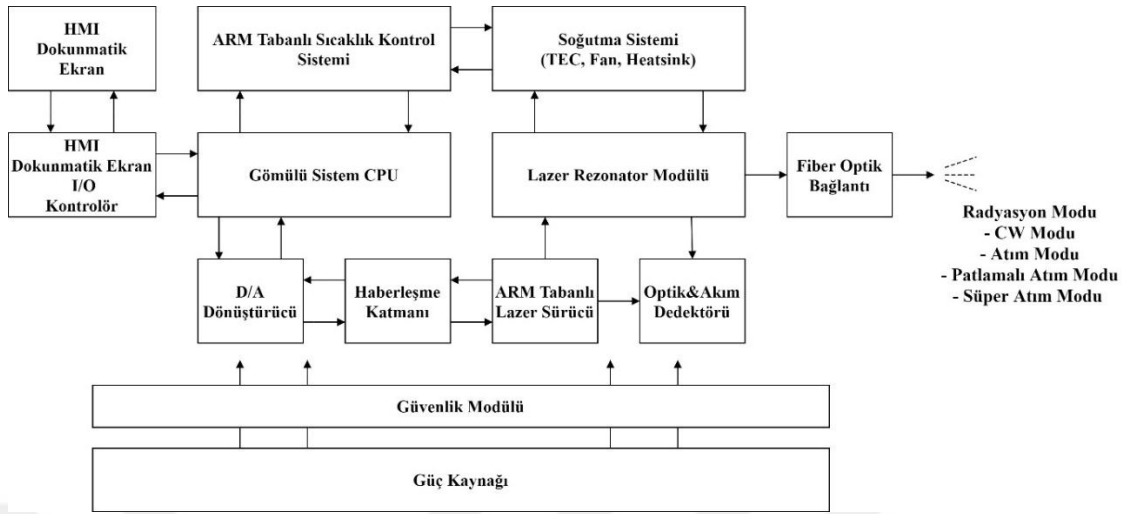
Bu bölümde çok modlu FDT lazer sistemi (MPTL) geliştirilmiştir. Çalışmanın yeniliği, literatürde Süper Atım Modu (Super Pulse Mode-SPM) FDT lazer sistemlerine ilk kez entegre edilmesi ve tekli oksijen molekülü izlenmesi açısından uygun tasarıma sahip olmasıdır. Önerilen sistem, lazer akımının hassas kontrolü ve lazer rezonatördeki sıcaklığın kararlılığının sağlanması yoluyla yüksek optik çıkış kararlılığı elde edebilmektedir. MPTL ayrı ayrı geliştirilen üç temel parçanın geliştirilmesi ve entegrasyonu ile oluşturulmuştur. İlk parça; ana kontrol kartı, iletişim modülü ve dokunmatik ekran üzerinde bulunan kullanıcı arayüzünden oluşmaktadır. İkinci kısım, yüksek frekanslı PWM kontrol özelliğine sahip lazer kontrol ünitesinden oluşmaktadır. Üçüncü kısımda ise TEC sistemi geliştirilmiştir. MPTL sistemi, istenen

optik dozun ayarlanması için dört farklı radyasyon moduna sahiptir. Optik radyasyon modu sisteminin performansı ile optik dalga boyunun, optik çıkış gücünün ve lazer rezonatör sıcaklığının kararlılığı çeşitli testler ile ölçülerek değerlendirilmiştir. Önerilen sistem 0 ila 1500 mW $\pm$ 1 mW aralığında yüksek optik çıkış kararlılığı, 635 nm $\pm$ 1 nm 'de yüksek dalga boyu kararlılığına ve tüm radyasyon modlarında sistem içi yüksek sıcaklık 15 °C $\pm$ 0.2 °C kararlılığına sahiptir.

3.1. Materyal ve Yöntem

Bu bölümde, geliştirilen Lazer sisteminin kararlı çıkış verilebilmesi amacıyla akım, sistem sıcaklığı, lazer diyot sıcaklığını, voltaj ve optik gücü anlık olarak kontrol edebilmek için geliştirilen alt sistemler açıklanmıştır. Geliştirilen her alt sistemin kendine ait işlemcisi bulunmaktadır. Bu işlemciler ana CPU ile anlık olarak haberleşmekte girilen bütün verileri anlık olarak işlemekte ve sistem hakkında bilgi sağlamaktadır.

Bu amaç ile geliştirilen MPTL sistemi LD (Intense 5200 Series, ABD) ile 635 nm'de 0 ila 1500 mW arasında kararlı bir optik çıkış sağlayabilecek şekilde ayarlanmıştır. Sıcaklık kontrolör sistemi, radyasyon modları için lazer rezonatör sıcaklığını 15 °C'ye sabitlemektedir. FDT lazer sisteminin tüm radyasyon modlarında optik çıkış gücünü gerçek zamanlı olarak ölçmek için LD içerisinde gömülü bulunan fotodiyot kullanılmıştır. Alınan ışıma sinyalinin algılanması için fotodiyot transimpedans amplifikatör devresi tasarlanmıştır. Alınan sinyal ile kontrolör için optik güce bağlı referans işareti oluşturularak geri besleme mekanizması olarak kullanılmıştır. Lazer çıkışının yüksek doğruluğa ve yüksek kararlılığa sahip olması amacı ile optik lazer çıkışı 0-1500 mW arasında 12 bit hassasiyet seviyesinde 4096 parçaya bölünerek dijital-analog (D / A) ve akım voltaj dönüştürücüler (I / V) yardımı ile kontrol edilmiştir. ARM tabanlı mikrodenetleyici, optik radyasyon modunu PID (Proportional–İntegral–Derivative) algoritması ile anlık olarak düzeltmektedir. Grafik kullanıcı arayüzü (GUI) istenilen optik güç, ışıma modu, süre ve enerjiyi kullanıcının girebilmesi için geliştirilmiştir. Geliştirilen sistemin ana blok şeması Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. MPTL sistemi blok şeması

3.1.1. MPTL sistem tasarımı

Lazer sistemi farklı teknik kısımları içerecek şekilde tasarlanmıştır. Sistem bir ana kontrolör, lazer sürücüsü ve sıcaklık kontrolü için bir TEC modülünden oluşmaktadır. Ayrıca gömülü sistem tabanlı algoritmalar geliştirilerek sisteme entegre edilmiştir. Işıma modu tabanlı dozimetrik algoritma MPTL için geliştirilmiş ve tüm ışıma modları için algoritma içerisine yerleştirilmiştir.

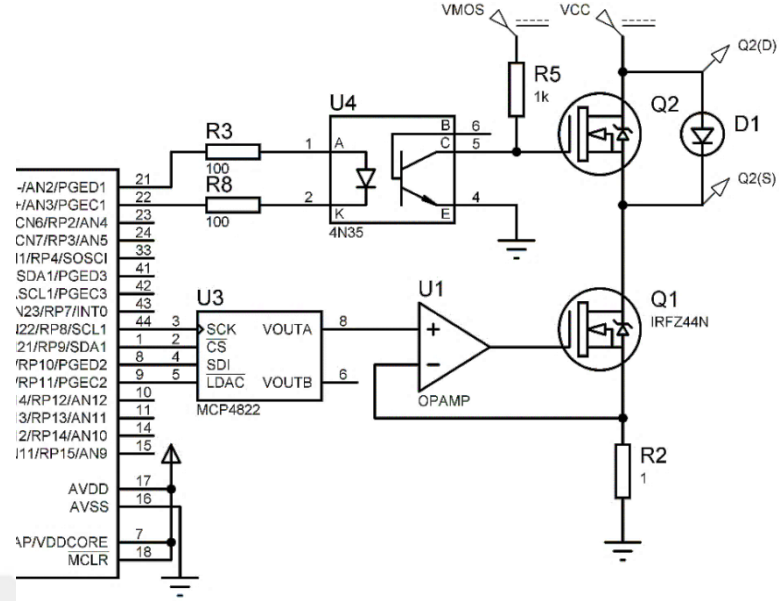
3.1.2. Ana kontrolör tasarımı

Gömülü sistem tabanlı ana kontrolör, dokunmatik ekran, gömülü sistem tabanlı bilgisayar, iletişim modülleri ve bu sistemleri birbirine bağlayan bir bağlantı devresinden (shield) oluşmaktadır. Ana CPU olarak kullanılan gömülü sistem bilgisayar, lazer sürücü ve sıcaklık kontrol ünitesi ile çift yönlü haberleşme özelliğine sahip olacak şekilde tasarlanmıştır. Sistem algoritması, tedavinin etkisini en üst düzeye çıkarmak için istenilen optik enerjiyi istenilen sürede verebilmesi amacı ile ışıma modları için dozimetrik hesaplama içerecek şekilde geliştirilmiştir. Geliştirilen yazılım bir dokunmatik ekran üzerinden kontrol edilebilmektedir. Kullanıcı ışıma modlarını, ışıma süresini, gücü ve moda özgü parametreleri seçebilmektedir. Sistem uygulanan

algoritmayı kullanarak verilecek enerjiyi hesaplamaktadır. Işıma seçildiğinde ışıma gücü ve süresi ayarlanarak uygulamaya özel ışıma oluşturulabilmektedir.

3.1.3. ARM tabanlı lazer sürücü tasarımı

Optik çıkış kararlılığının sağlanması, fotodinamik terapi tedavi kalitesi ve istenilen enerjinin tam olarak elde edilebilmesi açısından önemlidir. Kararlı olarak uygulanan optik gücün FS ve oksijen ile etkileşimi sonucu ürettiği tekli oksijen lüminesans değerlerinin de benzer olması sebebi ile geliştirilen sistemlerin kararlılığı daha da büyük bir önem arz etmektedir. LD'lerde, diyottan akan akım ile terminal gerilimleri arasında üstel bir ilişki bulunmaktadır. Voltajdaki küçük bir değişiklik, deneysel ölçümlere göre LD akımında üç katı bir değişikliğe neden olabilmektedir. Optik çıkış gücünün kararlılığını sağlamak için akım ve voltaj kontrolü amacı ile dört farklı PID bölgesi fonksiyonu oluşturulmuştur. Lazer sürücü, LD üzerine düşen gerilim ve akımı 0 ila 2.6 V aralığında 12 bit DAC hassasiyeti ile kontrol edebilmektedir. Akım ise 0-5 A arasında 1 mA hassasiyetle kontrol edilebilmektedir. ARM tabanlı lazer sürücü devresi, lazer rezonatör içindeki fotodiyot optik güç kalibrasyonu için kullanılmıştır. Sistem gerçek zamanlı olarak sistemin optik çıkışını referans değerleri ile karşılaştırmakta ve PID katsayılarına göre kontrol sağlamaktadır. Basitleştirilmiş LD sürücü devresi Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. ARM-tabanlı LD sürücü devresi

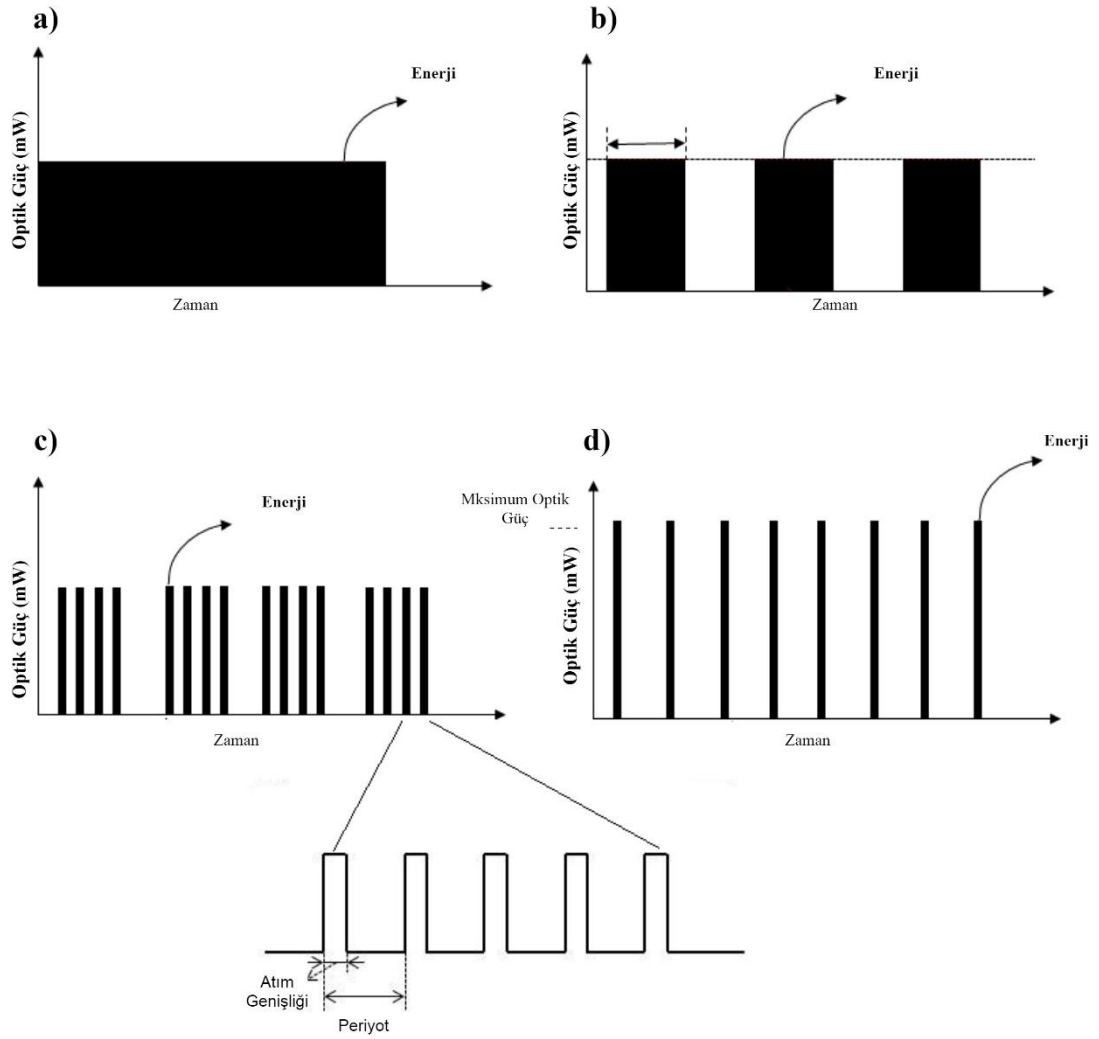
Şekil 3.2.'de gösterilen devrede, işlemsel yükseltici (U_1) terminallerinin yüksek giriş empedansı belirleyici olmaktadır. İşlemsel yükselteç tarafından empedans eşlemesi ile giriş terminalleri arasındaki voltajı 0 V ile eşleştirmek için çıkış sinyali oluşmaktadır. Akım, I_c - U_3 'e (Pin-3) bağlı V_{in} 'in (Pin-44) değerine bağlı olarak R_2 direnci üzerinden akmaktadır. V_{in} gerilimi mikrodenetleyici tarafından üretilmektedir. Mikrodenetleyiciyi aşırı akıma karşı korumak için, anahtarlamalar yüksek hızlı optokuplör üzerinden yapılmaktadır. Gerekli optik enerji için belirlenen akım Q1 MOSFET'i üzerinden akmaktadır ve LD'ye bağlanan seri alüminyum direnç üzerinden gerçek zamanlı olarak takip edilmektedir.

Lazer sürücü birimi tasarlanırken CW, Atım Modu (Pulse Mode-PM), Patlamalı Atım Modu (Burst Pulse Mode-BPM) ve SPM oluşturmak için gerekli sınırlamalar göz önünde bulundurulmuştur. LD ışıma modları açısından zaman sabitinin ve ışıma için gerekli eşik süresinin seçimi, kararlı bir ışık dozu açısından son derece önemlidir. Lazer sürücüsünün anahtarlama süreleri MOSFET giriş kapasitansı ve direncine (R_5) göre ayarlanmaktadır. Sistemin zaman sabiti 1 μs olarak seçilmiştir. Sistem, lazer rezonatörün korunmasını sağlamak için 1.5 μs 'ye göre kalibre edilmiştir.

Optik güç üretmek için, LD'nin ışımanın başlaması için gerekli eşik zamanı, atım modları için zaman sabitinin bir fonksiyonu olarak değerlendirilmektedir. Işıma oluşturmak için gerekli akım eşiği, aşırı kısa darbe süresinden dolayı en kritik parametre olan SPM için nanosaniye seviyesinde ayarlanmıştır. SPM zaman sabiti, ışıının çok hassas bir şekilde oluşturulması için eşik süresi ve ışıma süresinin toplamı olarak ayarlanmıştır.

3.1.4. Işıma Modları

Işıma modları, istenen enerji seviyesine ulaşmak için güç değerlerine ve çıkış sürelerine göre yapılandırılmaktadır. Şekil 3.3.'te dört farklı radyasyon modu için enerji seviyeleri gösterilmiştir. Atım modları için açma/kapama süresi hassas bir şekilde ayarlanarak doğru enerji seviyesi sağlanmaktadır. BPM modu için atımların içinde mikrosaniye ile milisaniye seviyelerinde değiştirilebilen atımlar bulunmaktadır. BPM modu temel olarak, PM modunun termal hasarının azaltılması ve oksijenlenme seviyesinin artırılması amacıyla geliştirilmiş bir versiyonudur. PM, BPM ve SPM doku oksijenlenmesini artırabilmekte ve tekli oksijen molekülünün daha temiz bir şekilde ölçülebilmesine olanak sağlamaktadır [122]. SPM, ışığın dokuya daha derin nüfuz etmesi için nanosaniye mertebesinde oluşturulması prensibine dayanmaktadır [195]. 100 ms aralıklarla 200 ± 50 ns'lik atımlar gerekli enerjiyi verecek şekilde oluşturulmaktadır. SPM uygulanan bölgede doku, su veya yağ yapısı içerisinde daha derine etki etme özelliğine sahiptir.



Şekil 3.3. a) CW, b) PM, c) BPM ve d) SPM'nin radyasyon modlarının enerji seviyeleri

Bir ışık kaynağının gücü ve enerjisi sırası ile watt ve joule birimleri cinsinden ifade edilmektedir. FDT'de, birim alan başına düşen optik güç W/m^2 veya mW/cm^2 olarak ifade edilmektedir. Örneğin, $5 \times 5 \text{ cm}^2$ 'lik bir alan 2 W gücünde homojen bir şekilde ışığa maruz kalır ise optik güç $80 \text{ mW} / \text{cm}^2$ olarak ifade edilmektedir. Bu güç 30 dakika boyunca hedefe uygulanır ise 144 J/cm^2 'lik bir enerji bu bölgeye ulaşmış olmaktadır. MPTL sistemi bu hesaplamaları geliştirilen algoritmaları kullanarak gerçekleştirmektedir. Kontrolör, algoritma için gerekli olan değerler ile ışık dozunu hesaplamaktadır.

3.1.5. Lazer sürücü yazılımı

LD gerilim düşümü, LD ve kontrol kartının korunması amacı izole girişler ile okunmuş ve çok-bölgeli PID algoritması ARM-tabanlı mikrokontrolör içerisine gömülmüştür.

LD'nin kontrol edilmesi sırasında elektriksel parametrelerin kontrolü ile ilgili en önemli kısım P, I ve D katsayılarının elde edilmesidir. Simülasyon ile LD'nin transfer fonksiyonunu ve katsayılarını belirlemek değişen fiziksel etkenler sebebi ile teknik bir sorundur. Bu sebeple, LD'nin PID katsayıları deneysel yöntemlerle belirlenmiştir.

LD voltaj düşüşü bir diferansiyel yükselteç ile ölçülmüş ve mikrodenetleyicinin analog girişi üzerinden okunmuştur. Optik güç değerleri sürekli olarak referans değeri ile karşılaştırılmıştır. Hata aralığı, ARM tabanlı lazer sürücüsü tarafından belirlenen değerde ($\pm\% 1$ optik güç) tutulmaktadır.

3.1.6. TEC sıcaklık kontrolörü

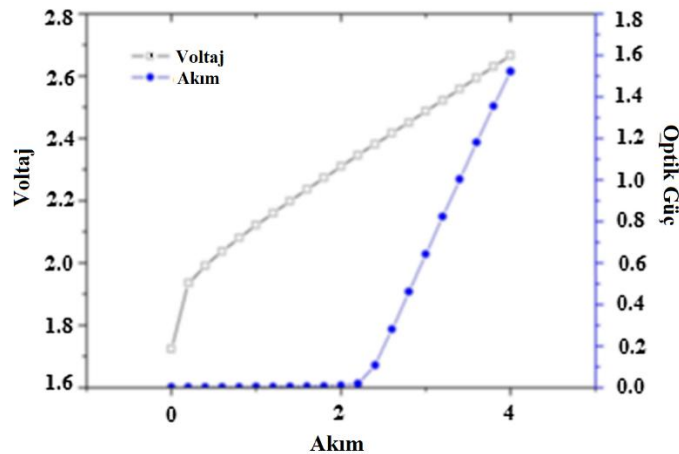
LD'nin sıcaklığı, istenen dalga boyunun elde edilebilmesi için belirlenen bir değerde sabit kalmalıdır. Lazerin güç ve dalga boyu kararlılığı sistemin çalışması sırasında değişen fiziksel parametrelerden etkilenmektedir. LD'nin fabrika verilerine göre, 635 nm'de optik dalga boyu üretmek için rezonatörün iç sıcaklığı 15 °C'de tutulmalıdır. Sıcaklık değişiminin gerçek zamanlı ölçümleri için entegre bir mikroişlemci içerisine gömülen bir algoritmanın aktif olarak kontrol işlemini yapması gerekmektedir. Sistemi belirlenen sıcaklık aralığında (15 ° C) tutmak için PID kontrolü kullanılmıştır [196]. Sıcaklık kontrol sistemi içerisinde, iki adet Peltier elemanın bulunmaktadır. Peltier elemanlardan biri LD içerisine gömülü iken diğeri LD kasasına direkt kontakt halindedir. MPTL sistemindeki çift katlı iki yönlü sıcaklık kontrolünün amacı, istenilen alanda ısıtma ve soğutma etkisini oluşturmak ve anlık olarak oluşan yüksek akım değişimlerine adapte olmasını sağlamaktadır.

3.2. Deneysel Sonuçlar

MPTL'nin çıkışında bulunan ışımının başarılı bir şekilde FDT tedavisi için kararlı olmasını sağlamak amacıyla, dalga boyu ve optik güç değişkenler göz önünde bulundurularak voltaj, akım, güç ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ayarlanmıştır. Her bir parametredeki değişiklik, diğer değişkenler sabit tutularak kaydedilmiştir ve alınan ölçümlerin sonuçları sırası ile açıklanmıştır.

3.2.1. Lazer diyotun elektriksel kontrol parametreleri ve sıcaklık kararlılığı

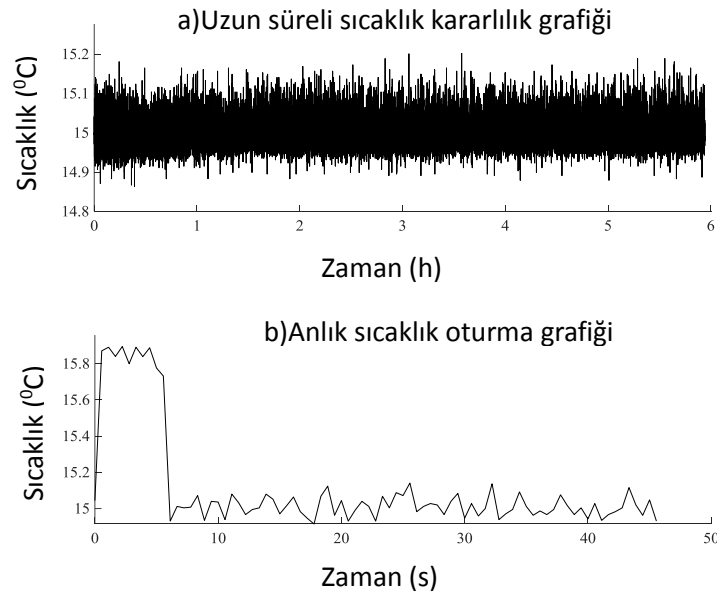
Deneysel ölçümler sonucu elde edilen LD'nin voltajına ve gücüne bağlı olarak akımın değişimi Şekil 3.4.'te gösterilmektedir. Deney sürecinde gerilim ve akım gerçek zamanlı olarak kayıt edilmekte ve PID kontrol algoritmasıyla gerçek zamanlı olarak elde edilen geri bildirim referans değerlerle sürekli olarak karşılaştırılmaktadır. Şekil 3.4.'de gösterildiği gibi, LD akımı 2.1A ulaşmadan çıkış elde edilememektedir. 0'dan 1500 mW'a kadar optik çıkış voltajı düşümü, LD'de sadece 1.7 ila 2.6 volt arasındadır bu sebep ile kontrolün önemi daha da artmaktadır. Bu voltaj düşüşü, lazer diyodun iç direncine seri olarak bağlanmış alüminyum direnç sayesinde ölçülür ve belirtilen %1'lik hata oranının korunmasını sağlamak için referans voltaj ile karşılaştırılmaktadır.



Şekil 3.4. Akım, voltaj ve LD optik çıkış ilişkisi.

Sistemin sıcaklık kararlılığı istenen optik çıkışın elde edilmesi için çok önemlidir. Düşük optik güç seviyelerinde optik güç kararlılığı ve yüksek çıkış güçlerinde dalga boyu kararlılığı, tüm FDT lazer sistemleri için zorlayıcı bir teknik problem olarak kabul edilmektedir. TEC sistemi, akım ve voltaj kontrol devresinin, farklı güçlerde optik güç salınımlarını ve dalga boyu tepe kaymalarını önlemek için yüksek kararlılıkta çalışması gerekmektedir.

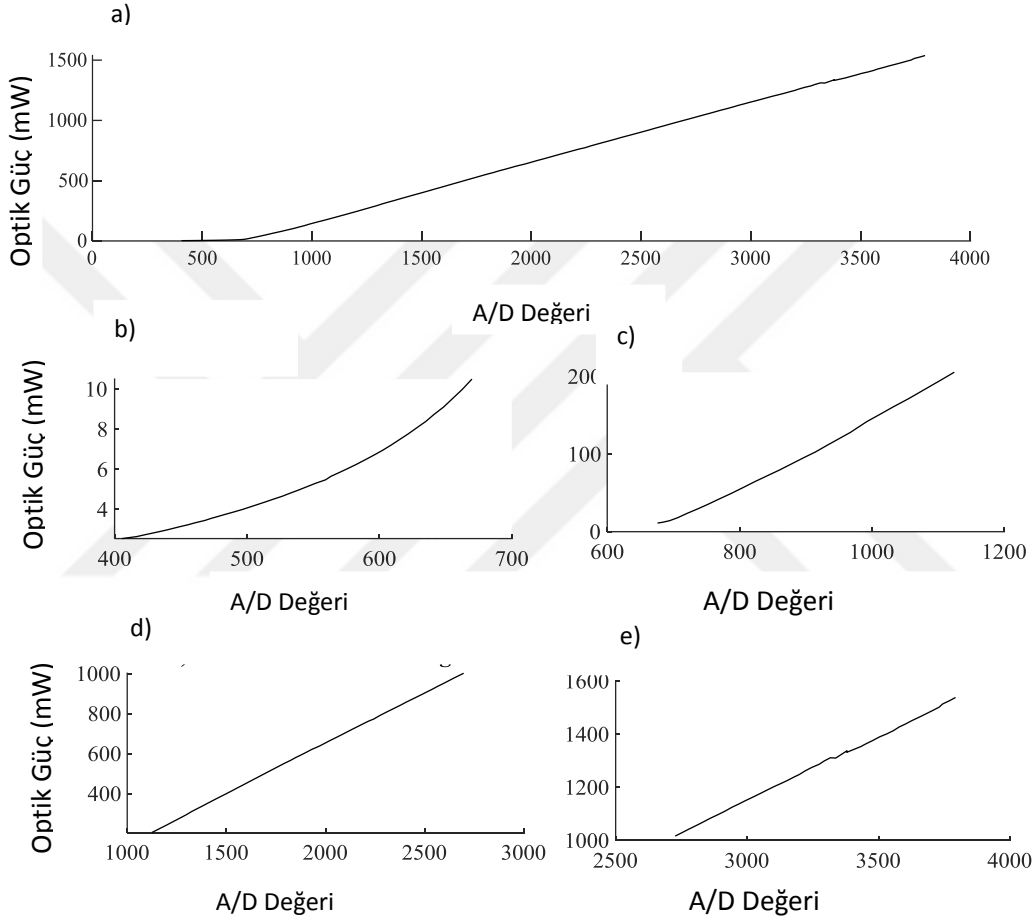
Uzun süreli sıcaklık kararlılığının ölçülmesi için, 6 saat boyunca sıcaklık değişimleri kaydedilmiştir. Zamana bağlı sıcaklık değişim grafiği Şekil 3.5. (a)'da verilmiştir. Kısa süreli sıcaklık değişimi ise Şekil 3.5. (b)'de gösterilmiştir. Akımın 0 ila 4 A arasında değiştirilme durumunda dahi bu geçişler sırasında LD sıcaklığı 15 ± 0.2 °C derecede sabit tutularak kararlılık sağlanmıştır. İlk ışımadan sonra MPTL'nin kontrol algoritması sayesinde kısa süre içerisinde sıcaklığın kararlı hale geldiği Şekil 3.5 (b)'de görülmektedir. MPTL sistemi, sıcaklık ± 0.2 ° C hataya getirildikten sonra tüm radyasyon modları için kalibre edilmiştir. Sıcaklık kararlılığının sağlanması için geçen süre oda sıcaklığında 5 saniye olarak belirlenmiştir. Sistem, bu sıcaklık kararlılığını tüm radyasyon modları için aynı sürede sağlayabilmektedir. Tüm modlar için hata payı maksimum % 0.01 olarak gerçekleşmektedir. Bu nedenle, patlamalı atım modunun ortalama verileri grafikte gösterilmiştir.



Şekil 3.5. a) Zamana bağlı sıcaklık değişim grafiği b) MPTL sisteminin başlama durumunda ilk tepkisi

3.2.2. Çok-bölgeli PID entegrasyonu

Tüm sisteme tek bir PID bölgesi uygulandığında, sistemin farklı güç aralıkları için kararlı çalışması mümkün olmamıştır. Maksimum optik güç ve dalga boyu kararlılığı elde etmek için, Şekil 3.6.'da gösterildiği gibi dört farklı güç aralığı için dört farklı PID uygulanmıştır. Tüm PID bölgeleri için ikinci dereceden bir fonksiyon kullanılmıştır.



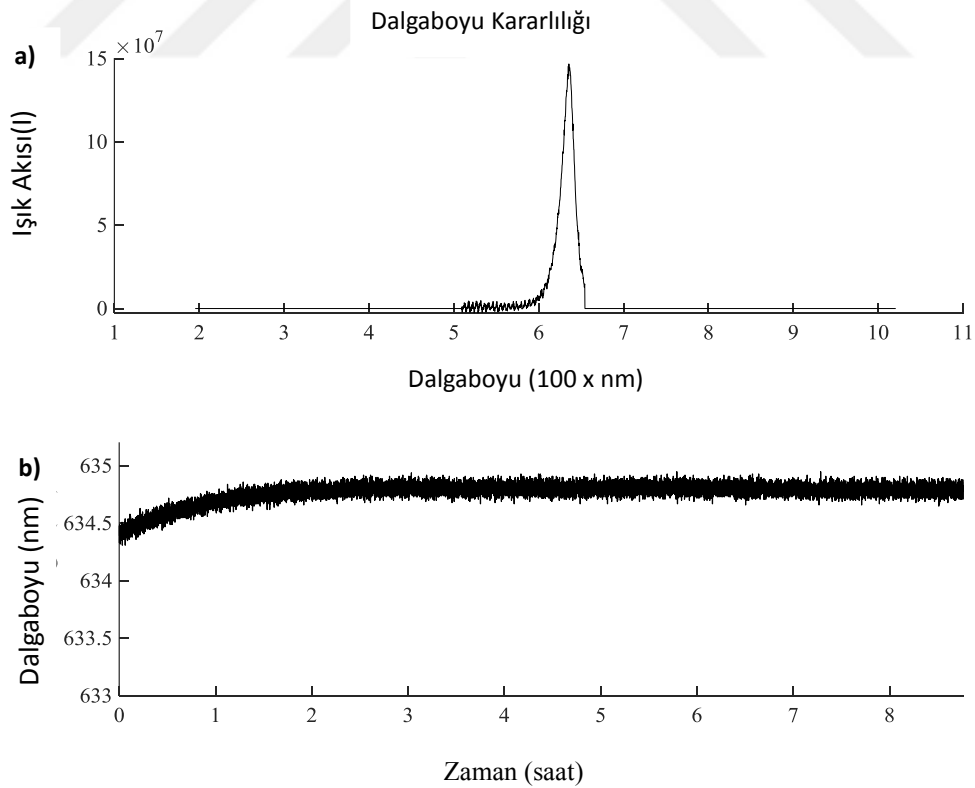
Şekil 3.6. Dört farklı güç aralığı için uygulanan PID bölgeleri A / D değerine karşı optik güç, a)0-1500 mW, b) 0-10 mW, c) 10-200 mW, c) 200-1000 mW, d) 1000-1500 mW.

3.2.3. Işıma modlarında dalga boyu ve optik güç kararlılığı

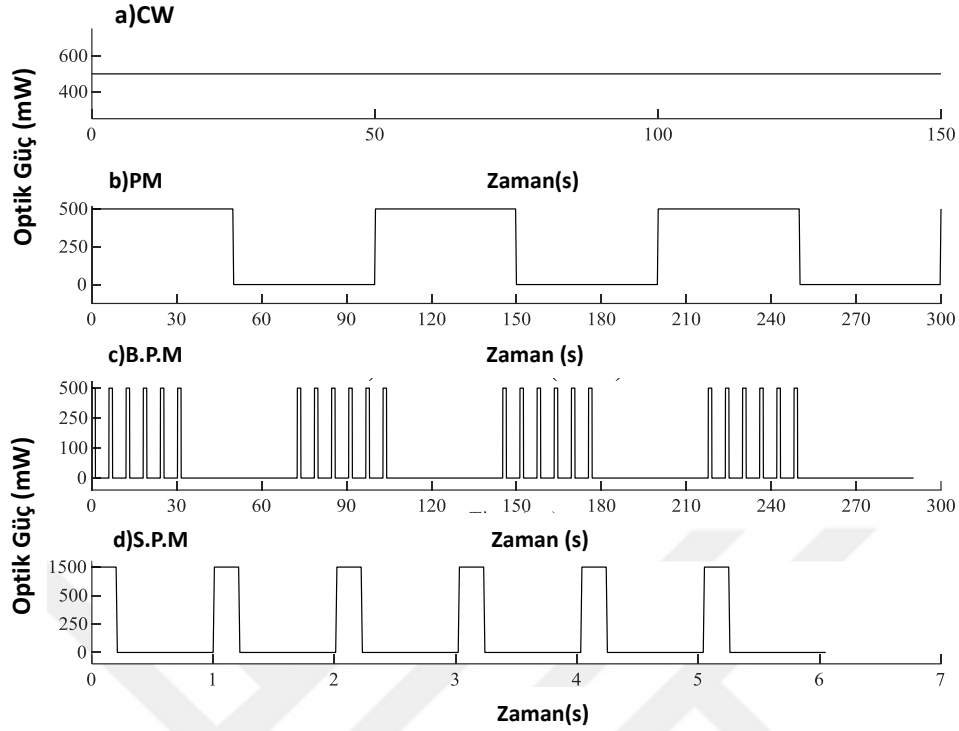
Cihazın maksimum klinik çalışma süresi 90 dakika olarak belirlense de, sistemin kararlılık ile ilgili sınırlarını belirlemek için veriler 6,12 ve 24 saat boyunca alınmıştır. Spektrum kararlılığı $635 \text{ nm} \pm 0.2$, tüm sistemin sıcaklık kararlılığı $15^\circ \text{C} \pm 0.2$ 'dir.

Optik güç kararlılığının önerilen sistem için 0-1500 mW arasında % 1'lik bir hata dâhilinde olduğu kayıt edilmiştir.

Dalga boyu kararlılığı zaman ve gücün bir fonksiyonu olarak ölçülmüştür. Sistemin maksimum optik gücü 1500 mW ve tüm radyasyon modları için dalga boyu FWHM (Full width half maximum) 635 ± 1 nm'de ölçülmüştür (Şekil 3.7. (a)). Dalga boyu çıkışının kararlılığını ölçmek için sistem maksimum güçte çalıştırılmıştır. Şekil 4.7 b)'de gösterildiği gibi, sadece ± 0.2 nm'lik bir salınım gözlemlenmiştir. Düşük güçlerde 0-400 mW arasında salınım ± 0.1 nm'ye düşmüştür. Sistem, istenen güç ve dalga boyunda % 1'lik bir hata ile dört farklı radyasyon modu için istenilen optik enerji değeri sağlayabilmektedir. Şekil 3.7.'de gösterildiği gibi dalga boyu kararlılığı yapılan 5 farklı ölçümün alınan verilerinin ortalaması alınarak grafikte gösterilmektedir. CW, PM ve BPM modları için aynı enerji değerlerinin uygulamada kullanıldığı farklı sürelerle sahip optik çıkış dalga çıkışları Şekil 3.8. (a), (b) ve (c)'de gösterilmektedir. SPM için, sistemin maksimum optik gücü Şekil 3.8. (d)'de gösterildiği gibi 1500 mW'dır.

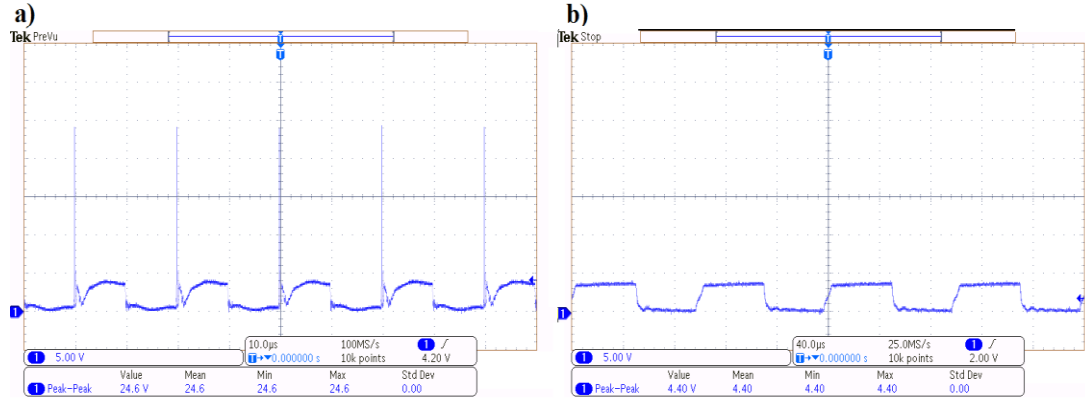


Şekil 3.7. Tüm radyasyon modları için, a) Dalgaboyu spektrumu, b) Dalgaboyunun 500 mW optik güç kararlılığı.



Şekil 3.8. MPTL sisteminin aynı enerji için optik çıkışları ve kararlılıkları: a) CW, b) PM, c) BPM, d) SPM.

En büyük teknik zorluklardan biri, en hassas ve önemli bileşen olan LD'ye hasar vermeden atımları ve süper atımı oluşturabilmektir. MPTL sisteminin, zararlı yüksek akım pikleri olmadan atımları akım ve voltaj dengesi çerçevesinde üretmesi gerekmektedir. LD için gerekli zaman katsayıları hesaba katıldığında ışıma süresi atım modları için, 20 μ s olarak ölçülmüştür. PM ve BPM durumunda, ışık dozunun hesaplanması için algoritmada zaman sabiti de hesaba katılmaktadır. Ek olarak, SPM radyasyonu zaman sabiti aşıldıktan sonra 200 ns $\pm$ 50 aralığında ışıma verilecek şekilde ayarlanmıştır. Şekil 3.9. a) ve b), atım modu için zararlı akım pik noktalarını elimine etme işleminin osiloskopta kaydedilen sinyal şekilleri verilmiştir. Akım, darbe modları için çok kısa sürede ani değişikliklere maruz kalmaktadır. Bu durum istenmeyen akım pikleri oluşturmaktadır. Bu pikler, lazer sürücü içerisindeki analog elemanlar ve zaman sabitinin algoritma içerisine entegrasyonu ile ortadan kaldırılmıştır.



Şekil 3.9. a) LD akımında oluşan istenmeyen akım pikleri, b) istenmeyen piklerden temizlenmiş LD akımı

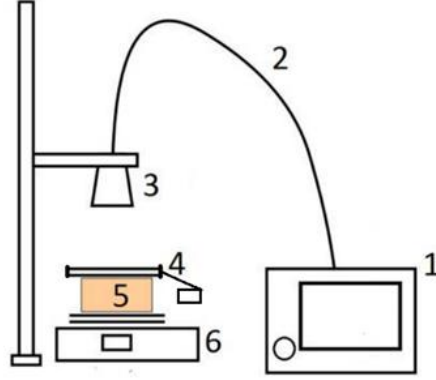
Geliştirilen sistemde, radyasyon modlarında meydana gelen farklı optik çıkış gücü PID fonksiyonları ile zaman içinde sıcaklık kararlılığı ile mükemmel optik çıkış gücü ve dalga boyu kararlılığı elde edilmiştir. Elektriksel ve optik kararlılığa ulaşıldıktan sonra, radyasyon modlarının uygulama yüzeyinde oluşturduğu termal etkiyi göstermek için deneyler yapılmıştır. Ölçümler bir sonraki kısımda gösterilmiştir.

3.2.4. Işınlama modlarının doku üzerindeki termal etkisi

Doku yüzeyinin sıcaklığını ölçmek için kullanılan test düzeneği Şekil 3.10.'da gösterilmiştir. Sıcaklık ölçüm sisteminin bileşenleri FDT lazer cihazı (1), fiber optik kablo (2), kolimatör (3), sıcaklık ölçüm cihazı (4), doku örneği (5) ve bunların üzerine koyulduğu tutucu mekanik sistemden (6) oluşmaktadır.

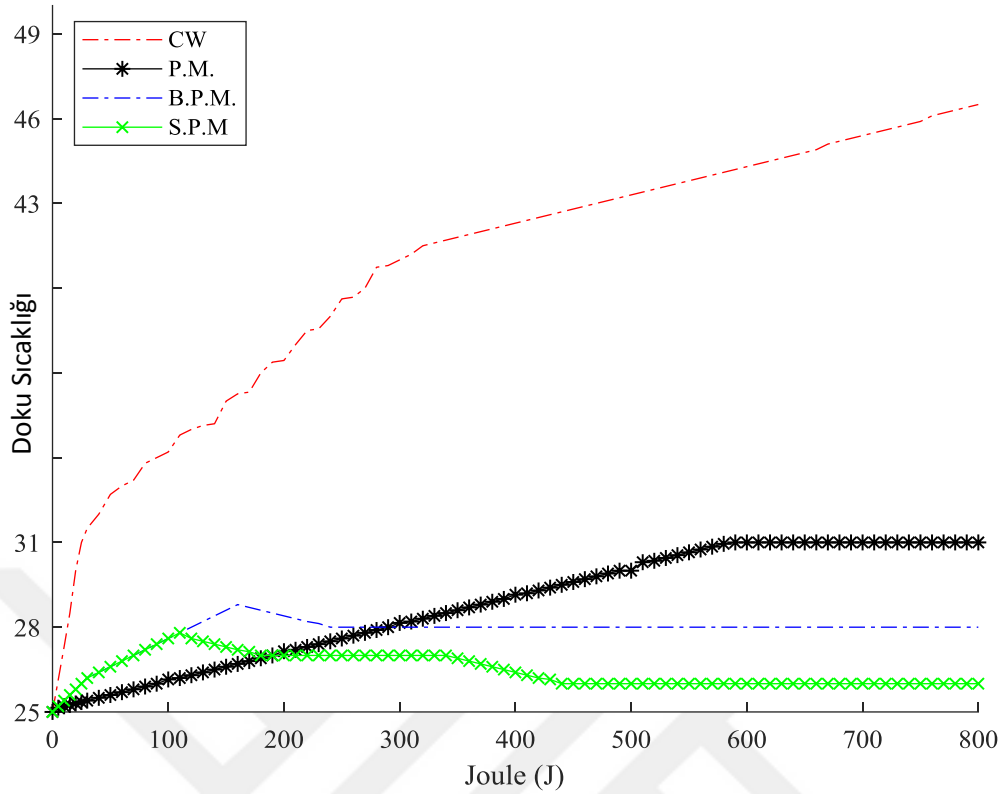
Sıcaklık değişiklikleri tavuk göğsü dokusu üzerinde incelenmiştir. Hedef uygulama alanının 2 cm^2 olmasından dolayı ışımanın profili 1.5 cm^2 olarak ayarlanmıştır. Işıma profilinin orta noktası ile kenar noktası arasında sadece 0.001°C 'lik bir sıcaklık farkı oluşmuştur, alınan bu sonuç MPTL sistemi tarafından yayılan ışığın homojonitesini (Beam profile kalitesi) göstermektedir. Optik güç SPM modu için ise $300 \text{ mW} / \text{cm}^2$ ve diğer üç mod için $100 \text{ mW} / \text{cm}^2$ olarak belirlenmiştir. Lazer tabanlı nokta sıcaklık sensörü (Wollex, Ultra, Güney Kore) dokunun anlık sıcaklık ölçümü için kullanılmıştır. Işımanın dokuya olan mesafesi 10 cm olarak belirlenmiştir. Işıma süresi enerji denklemine göre ayarlanmaktadır ($J = \text{watt} \times \text{zaman}$). Bu nedenle, aynı miktarda enerjiyi sağlamak için ışıma süreleri her radyasyon modu için birbirinden farklı olarak

ayarlanmıştır. CW, PM, BPM ve SPM için maruz kalma süreleri sırasıyla 800, 1600, 1600 ve 1600 saniye olarak belirlenmiştir. Atım zamanlamaları, Şekil 3.8.'de gösterildiği gibi aynı miktarda enerji verecek şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 3.10. Doku yüzeyinin sıcaklığını ölçmek için kullanılan test düzeneği

Sıcaklık yükselmeleri Şekil 3.11.'de gösterildiği gibi her 10 J/cm^2 'de bir alınmıştır. Sıcaklık değerleri 800 J/cm^2 toplam enerji sonrası CW mod için 46.5°C , PM için 30.5°C , BPM için 28.5°C ve SPM için 26.8°C olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.11. Işıma modları için enerji /doku sıcaklığı eğrisi.

3.3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Fotodinamik terapi cihazları klinik ve deneysel uygulamalar için hassas ve güvenilir kontroller gerektirir. Aynı zamanda, çalışabilir halde olmadan için kısa sürede kalibrasyonlarının tamamlanması beklenmektedir. Tezin bu bölümünde, fotodinamik terapi için etkili bir lazer cihazı geliştirilmiştir. LD modülü TEC sistemi ile doku ise geliştirilen radyasyon modları ile termal hasardan korunmuştur. MPTL sistemi, anlık geri bildirimler ile optik gücü kapalı çevrim olarak kontrol etme özelliğine sahiptir. Klinik FDT uygulamaları için kullanılan lazer cihazları literatürde incelenmiştir. Sistemlerin bir kısmı tedavi sırasında dokuda termal hasara neden olabilmektedir. Termal hasar problemini incelemek amacıyla H.S. Lim tarafından yapılan farklı ışıma modlarına sahip bir FDT cihazı geliştirmiştir [122]. Bu cihaz, Kore FDA tarafından onaylanarak kliniklerde kullanılmıştır. FDT cihazı sürekli atım ve patlamalı atım modları ile birlikte geliştirilmiştir. Yapılan incelemeler, en düşük termal etkinin BPM modunda elde edildiğini göstermiştir. Bununla birlikte, optik güç kapalı çevrim olarak

kontrol edilmediğinden optik güç kararlılığı uygulamalarda sorun oluşturabilmektedir. Bu bölümde açıklanan ve tez kapsamında geliştirilen MPTL cihazı farklı dört radyasyon moduna sahiptir. Cihaz, dokuya çok kısa sürede yüksek enerji vermek ve ışığın oransal olarak daha derine nüfuz etmesini sağlamak amacı ile SPM modu ile birlikte geliştirilmiştir. H.S. Lim tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında, dokuda 3,7 °C daha düşük sıcaklık değişikliğine sebep olmaktadır [122]. Doku sıcaklığındaki değişiklikler Şekil 3.11'de gösterilmektedir. Ayrıca, MPTL sistemi, dalga boyu ve optik güçteki dalgalanmaları önlemek için sürekli olarak tüm parametreleri kalibre etmektedir. Bu sayede uygulamalar sırasında üretilen tekli oksijen molekülünün de oksijenlenme ile birleştiğinde kararlı olması beklenmektedir. Tedavinin izlenebilirliği teknik açıdan ışık kaynağının kalitesine de bağlıdır.

Shadid ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada 635 nm pik dalga boyunda bir CW radyasyon modundan ve 2 W optik güçten oluşan bir FDT lazer sistemi geliştirmiştir [202]. Geliştirilen, sistem tek radyasyon modu içermektedir ve herhangi bir kapalı çevrim kontrol sistemine sahip değildir. Çalışmada dalga boyu, sıcaklık kararlılığı veya termal hasar dikkate alınmamıştır. Yapılan bir çalışmada Driel ve ekibi ticari bir FDT lazer sistemi (Modulight, 7710, Finlandiya) kullanmıştır [203]. Sistem her kullanımdan önce 690 nm dalga boyunun eksiksiz sağlanması amacı ile CW modu ile açılış sırasında kapalı çevrim kalibrasyon özelliklerine sahiptir. Sistem tek bir radyasyon modu ile çalıştığından ve optik kalibrasyon özelliğine sahip olmadığından termal hasar ve doku yeniden oksijenlenme sorunlarına yol açabilmektedir. 2018 yılında Oluwale ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada birden fazla dalgaboyunda çalışan ve kalibrasyon modülü içeren ticari bir FDT lazer sistemi (Modulight Lazer, Finlandiya) kullanılmıştır [204]. Sistem tek bir moda sahiptir ve sistemin optik performans kararlılığı açısından herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Marks ve ekibi 630 nm dalga boyunda, şişirilebilir balonlu fiber optik kablodan oluşan bir FDT lazer sistemi kullanmıştır [205]. Sistem optik kalibrasyon, sıcaklık kalibrasyon modülü ve CW mod içermektedir. 2000 yılında yapılan bir başka çalışmada, gözdeki katarakt tedavisi için 690 nm dalga boyundan oluşan bir FDT lazer sistemi kullanmıştır [206]. Sistem nispeten düşük bir güce sahiptir, radyasyon modu içermemektedir ve optik veya dalga boyu kararlılığından bahsedilmemiştir.

Atım modlarının önemi çeşitli alanlarda yapılan çalışmalarla da gösterilmiştir. Barbara Z. ve ekibi 2017 yılında, dermatolojik uygulamalarda ER:YAG (Erbium – Yag Lazer) lazer süper darbelerinin penetrasyon derinliğinin arttığını göstermiştir [207]. 2015 yılında 1060 nm'de bir Yb (Ytterbium) fiber lazer ile insan ve hayvan dokusunda SPM'in nispeten daha yüksek bir doku penetrasyon derinliğine sahip olduğunu gösterilmiştir [208]. Gao ve ekibi 2016 yılında düz siğiller ve siyah lekeler SPM ile daha hızlı iyileşme sağlandığını göstermiştir [209]. Yine 2016 yılında yapılan bir başka çalışmada atım modlarının FDT sırasında dokunun oksijenlenmesi üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir [210]. Vinnichenko ve ekibi tarafından 2018 yılında yapılan bir başka çalışmada SPM modunun, dokunun ablasyonu, kesilmesi ve pıhtılaşması üzerinde daha derin bir penetrasyon etkisi olduğunu doğrulamıştır [211]. Tedavi için SPM kullanan başka çalışmalarda bulunmaktadır [212-215].

Literatürde FDT sistemleri değerlendirildiğinden ışık kaynağı kalitesinin, teknolojisinin ve uygulama bölgesinin termal özelliklerinin FDT uygulamalarının başarısına etki ettiği görülmektedir. Bu termal özelliklere etki eden her özelliğin uygulama bölgesinde bulunan su, yağ, doku yapıları üzerinde de etkileri bulunmaktadır.

Dokunun optik özellikleri FDT'nin verimliliğini etkileyebilmektedir. Daha güvenli ve daha hassas lazer tedavileri için dokunun optik özelliklerinin bilinmesi gerekmektedir. Dokunun optik özellikleri doku sıcaklığındaki değişikliklerden etkilenmektedir. Absorbsiyon ve azaltılmış saçılma katsayılarındaki değişiklikler yansıma ve transmisyon değerleri ile hesaplanabilmektedir. 2018 yılında yapılan bir çalışmada transmitans değerinin sıcaklık ile pozitif bir korelasyona sahip olduğu gösterilirken, geçirgenlik sebebi ile oluşan yansımanın negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur [216]. Emilim katsayısı sıcaklıkla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermese de, azalan saçılma katsayısı ile negatif korelasyon göstermiştir. Sonuçlar, daha güvenli lazer tedavisi için optik özelliklerde sıcaklığa bağlı değişikliklerin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. In vitro olarak yapılan uygulamada doku kullanılmasının sebebi sıcaklık ölçümü açısından homojen bir yapıya sahip olması ve gerçek ortama

uygun bir karşılaştırma sağlayabilmesidir. Sonuç olarak, tekli oksijen lüminesansının kararlı olarak aynı bölgeden ölçülebilmesi için uygulamanın yapıldığı ortamın fotofiziksel parametreleri ve ısı değişimi dikkate alınmalıdır.

Ölçümler sırasında tekli oksijen miktarının azalmasının kararlı olmayan ışık kaynağından mı, FS tükenme katsayısı sebebi ile mi veya ortamda bulunan oksijenin azalması sebebi ile mi olduğu sorularının cevabı dozimetri modelleri açısından büyük önem taşımaktadır. Bu durumun teknik bir sebep olan ışık kaynağından kaynaklanmadığını kesin olarak bilebilmek tedavi sırasında yorumsal açıdan büyük katkılar sağlamaktadır.

Tekli oksijen molekülünün izlenmesinin önemli olduğu durumlarda ise atım modları oksijenlenme etkisi, termal hasarın azaltılması ile doku özelliklerinin değişmemesi, FS tükenme katsayısına bağlı olarak kuantum veriminin hızla azalmasının oksijenlenme sebebi ile önüne geçilmesi özellikleri sebebi ile yeni nesil dosimetri uygulamaları için MPTL rahatlıkla kullanılabilecek özelliklere sahiptir.

BÖLÜM 4.MPTL VE SODS SİSTEMLERİ KULLANILARAK SOED VE SOLD TABANLI DOZİMETRİK YÖNTEMLER İLE AMFDT UYGULAMASI

FDT'nin yaygın kullanım alanlarından biri de enfeksiyon tedavileridir. Antibiyotiğe dirençli bakterilerdeki artış nedeniyle FDT, enfeksiyon tedavileri için etkin ve aktif kullanılabilir bir yöntem haline gelmektedir. Işık kaynağı, ışığa duyarlılaştırıcı ve oksijen FDT'nin önemli bileşenleridir. Tekli oksijen miktarı ve yeri FDT'nin etkinliği hakkında en net ve etkili bilgiyi sağlamaktadır. Tekli oksijenin kantitatif miktarı, FDT sırasında tedavi verimliliğinin gerçek zamanlı izlenmesi için altın standart olarak kabul edilmektedir [100-105].

Tezin bu bölümünde SOED ve SOLD yöntemlerini kullanarak ışırma modlarının FDT üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, antimikrobiyal fotodinamik terapi (AmFDT) için süper atım ve atım ışırma modları kullanılmıştır. Radyasyon modlarının etkisini incelemek için beş farklı in vitro deney yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, süper atım modu atım moduna göre %3 ila %10 arasında daha fazla tekli oksijen molekülü üretimi ve %2-%5 daha fazla bakteri (*Staphylococcus Aureus*) ölümü (nekroz ve apoptoz) sağlamıştır. Deneylerde anlık ve kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu üzerindeki radyasyon modu etkisi dikkate alınmıştır. SOED ve SOLD yöntemleri kullanılarak hesaplanan ve ölçülen tekli oksijen konsantrasyonunun birbirleri ile korele olduğu gösterilmiştir. SOED yönteminin sonuçlarının hemen ortaya çıkmamasına rağmen FDT sırasında hesaplamaların belirli kabuller ile gerçek zamanlı tekli oksijen ölçümleri sırasında kullanılabilmesi mümkün görünmektedir.

4.1. Giriş

Başarılı FDT tedavisi üç temel bileşenle sağlanabilmektedir: ışık, FS ve oksijen. Tekli oksijen konsantrasyonu FDT uygulaması sırasında bu üç bileşenin ortamda bulunduğu ve etkin dozimetrik takibin yapılabileceğinin göstergesi olarak literatürde yerini almıştır. FDT dozimetri hesaplamaları, genel olarak ışığa duyarlaştırıcı ve ışık dozları ayarlanarak yapılmaktadır. Bu durum tedavi etkinliğinin aktif olarak izlenememesine ve başarısız uygulamaların hangi sebep ile olduğunun tam olarak ortaya çıkarılamamasına sebep olmaktadır. Bu nedenle yapılan sadece ışık tabanlı temel dozimetri yöntemi birçok uygulamada yetersiz kalmaktadır [102, 103]. Ayrıca, hedef ortamın optik özellikleri, bu özelliklerdeki fiziksel değişimler, uygulama bölgesinin oksijen konsantrasyonu ve yeniden oksijenlenme oranı tedavi sonucunu etkilemektedir [104, 105]. Uygulama bölgesinin fiziksel özelliklerini değiştirmeyen ışık kaynakları ve hassas ölçüm sistemlerinin birlikte kullanılması kararlı tekli oksijen lüminesans ışıması sonuçları alınması açısından önemli hale gelmektedir.

Literatürde, örtülü dozimetri, açık dozimetri ve biyofiziksel / biyolojik yanıtın izlenmesi de dahil olmak üzere etkili FDT dozimetri yöntemleri geliştirebilmek için çeşitli yöntemler önerilmiştir [139, 164]. SOED dozimetrik modelinde, tanımlanan biyofiziksel dozimetri ışığa duyarlılaştırıcı tarafından emilen ve ışığa duyarlılaştırıcının lokal konsantrasyonunun optik gücün uygulama süresi ile orantılı olarak alınan integrali ile hesaplanması üzerine kurulmuştur. Oksijen açısından zengin koşullar altında geleneksel FDT dozu, tedavi süreci hakkında bilgi verebilmektedir. Bununla birlikte, oksijen açısından zayıf hedefler söz konusu olduğunda, yüksek ışık akısı hipoksik ortam oluşmasına yol açabilmektedir [105, 133, 217]. Bu nedenle, FDT tedavisinin sonucunu karakterize etmek için bakteri veya kanser hücrelerinin oksijen tüketimi dikkate alınmalıdır. Son çalışmalarda birçok araştırmacı, oksijenlenme özelliklerini dikkate alan tekli oksijen lüminesans bazlı dozimetri modelleri kullanmıştır. Bu modeller arasında öne çıkan SOLD yöntemi 1270 nm dalga boyunda oluşan tekli oksijeni lüminesansını yakalamak için geliştirilen sistemler içermektedir [123, 166, 167]. Tekli oksijen aydınlatmasını izlemek için, IR PMT, InGaAs SPAD'ler, monokrom tabanlı enstrümanlar gibi çeşitli tespit sistemleri de bulunmaktadır.

[152,168-171]. Bu sistemler potansiyel bir FDT dozimetri aracı olarak veya tedavi sırasında değişen uygulama bölgesinin kısmi oksijen yoğunluğu gibi fizyolojik parametreler hakkında bilgi almak için kullanılabilir [218,104]. IR PMT ve InGaAs SPAD tabanlı sistemlerin kontrollü laboratuvar ortamları için yararlı olduğu kanıtlanmış olsa da, çevresel parametrelere bağlı değişkenlikleri, maliyet ve verimlilik problemleri bu cihazları yaygın klinik kullanım için erişilemez kılmaktadır.

Verilen tekli oksijen yakalama sistemleri literatürü ışığında, FDT uygulamaları için tekli oksijen konsantrasyonun dozimetrik SOED ve SOLD teknikleri ile başarılı bir şekilde izlenebildiği sonucu çıkarılabilir. Yakın kızılötesindeki lüminesans emisyonu nedeniyle tekli oksijenin doğrudan ölçümü, tekli oksijen ömrünün kısa olması (~ 10 ns-15 us) ve zayıf olması nedeniyle yüksek teknoloji içeren elektronik komponentler içeren bir sistem geliştirilmesi zorlayıcı bir mühendislik problemidir [141, 134, 135]. Ek olarak, doğru teknikler ile FDT açık yaralarda, suda, yiyeceklerde, enfekte olmuş dokularda, protezlerde ve implantlarda dezenfeksiyon için güçlü bir aday haline gelmektedir.

Antibiyotiğe dirençli ve son derece tehlikeli bir bakteri olan SA, diyabet hastalarında, implante edilmiş protezlerde ve yaralı hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Antibiyotikler enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan en yaygın ilaçlardır. Ancak SA gibi antibiyotiğe dirençli bakterileri tamamıyla öldürebilmek için yeterli değildir [146, 219, 220]. Literatür araştırmasına göre AmFDT bakteri eliminasyonu için SA'ya karşı yüksek etki gösterebilmektedir [72, 221-223]. Ancak, başarılı bir AmFDT elde etmek için, temel bileşenlerin aktif olarak monitörize edilmesi gerekmektedir. Işık dozimetrisi, FS dozimetrisi, bakteriyel oksijen tüketimi ve oksijenlenme oranı AmFDT'nin başarısını takip etmek amacıyla kullanılması önemli faktörlerdendir.

Literatürde belirli bir bant genişliği ve tepe dalga boyuna sahip birçok fotosensitizan bulunmaktadır. İdeal bir ışığa duyarlı hale getirici 600-800 nm arasında yüksek bir uyarma katsayısına sahiptir. 600 nm'nin altındaki dalga boyları biyolojik moleküller tarafından güçlü bir şekilde emilmektedir. 800 nm'nin üzerindeki fotonlar enerji

açısından ışığa duyarlı hale getiriciyi harekete geçirecek kadar zengin değildir [224]. 600-800 nm dalga boyu içinde, su bazlı FS'ler tekli oksijen üretme kapasitesi ve dokular üzerindeki ışık penetrasyonları yüksek olduğundan daha çok tercih edilmektedir [225, 193]. Kızılötesi emilim tepe noktasına yakın olan ışığa duyarlılaştırıcılar, AmFDT uygulamaları için de daha uygun olarak görülmektedir [227]. Bunlar arasında, MB 664 - 631 nm arasında bir maksimum emilime ait tepe noktasına sahiptir [226]. FS belirlendikten sonra, istenen optik güç seviyesi aralığında FS'nin maksimum sayıda tekli oksijeni üretmesi amacı ile istenilen güç ve sürede kararlı bir ışık kaynağının kullanılması gerekmektedir. FS'nin pik emilim noktasını sorunsuz elde etmek için çeşitli ışık kaynakları kullanılabilir. Işık kaynakları optik performans kararlılıkları ve bant genişlikleri dikkate alınarak seçilmelidir. Lazerler ve LED'ler, AmFDT uygulamaları için ışık kaynağı olarak kullanılabilir. Son araştırmalar bu ışık kaynaklarının performansları nedeniyle bakteriyel alanda kullanılmasının uygun olduğunu göstermektedir [116-118,228].

Çalışmanın bu bölümünde, bakteriler ihtiva eden MB çözeltilerindeki tekli oksijen üretimi, atım ve süper atım ışıma modları açısından incelenmiştir. Bu amaçla, farklı MB oranlarına sahip çözeltilerin tekli oksijen üretim ve buna bağlı luminesans seviyeleri ile ilgili deneyler yapılmıştır. SOED hesaplamaları ve SOLD ölçümleri, SODS kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her deneyde AmFDT için uyarlanmış SOED ve SOLD dosimetrik modelleri karşılaştırılmıştır. PM ve SPM modunun deney sırasında tekli oksijen molekülü oluşturma kapasitesi SODS sistemi kullanarak SOLD yöntemi ile kayıt altına alınmıştır.

Sunulan çalışmanın amaçlarından biri AmFDT etkinliğini bilgisayar destekli hesaplama içeren dozimetri ve ölçüm tabanlı dozimetri yöntemleri ile incelemektedir. Işık kaynağının atım ve süper atım ışıma modları, AmFDT sırasında tekli oksijen üretme kabiliyetleri açısından karşılaştırılmışlardır. Önerilen çalışmanın doğrulanması amacıyla beş deney gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde, 10 J / cm^2 enerji yoğunluğu, atım ve süper atım modunda $660 \pm 10 \text{ nm}$ dalga boyuna sahip lazer ışık kaynağı ile farklı MB konsantrasyonlarının (% 1 ve % 5) tekli oksijen molekülü üzerinde etkileri araştırılmıştır. SOED ve SOLD yöntemleri kullanılarak her deney için anlık ve

kümülatif konsantrasyonlar kayıt altına alınmıştır. Sonuçlara göre, her iki radyasyon modu AmFDT uygulamaları için kullanılabilirlik özelliğine sahiptir. Süper atım modu, tekli oksijen konsantrasyonunun seviyesini yaklaşık olarak yüzde % 3 ila % 10 arasında artırarak in vitro deneylerde nispeten daha yüksek bir SA mortalitesine sebep olmuştur. Ayrıca SOED ve SOLD yöntemleri kullanılarak ölçülen tekli oksijen konsantrasyonunun birbirine yakın değerler verdiği gösterilmiştir. SOED sistemleri, SOLD tabanlı sistemlerin karmaşıklığının ve maliyetinin üstesinden gelmek için tercih edilebilir. Ancak, gerçek zamanlı uygulama etkinliği takibi için SOLD tabanlı bir sistem kullanılması gerekmektedir. Çalışmada ikincil bir sonuç olarak klinik maliyet açısından daha ulaşılabilir ve doğrulanabilir dozimetri yöntemlerinin oluşturulabilmesi için SOED ve SOLD tabanlı hibrit yöntemlerin geliştirilmesi gerektiği sonucuna da ulaşılmıştır.

4.2. Materyal ve Yöntem

Bu bölümde SOED ve SOLD dozimetri yöntemleri, AmFDT uygulamasına uyarlanmış ve deneysel prosedürün ayrıntılı açıklamaları verilmiştir. Hesaplamalar için gerekli parametreler, SOED yoluyla tekli oksijen üretim seviyesini hesaplamak için MB parametreleri ile modifiye edilmiştir. Bu yöntemle hesaplanan tekli oksijen konsantrasyonları, SODS ile SOLD modeli kullanılarak yapılan tekli oksijen lüminesans ölçümleri ile karşılaştırılmıştır.

4.2.1. Bakteri kültürü oluşturma prosedürü

Bu çalışmada antibiyotiğe dirençli olan SA bakterisi kullanılmıştır. Hücreler 37 ° C'de petri kabında kültüre edilmiştir ve 24 saat süre ile incelenmiştir. Deneyler için, 100 µL'lik bakteri konsantrasyonu için kalibre edilmiş bir pipet kullanılmıştır. Damıtılmış su yardımı ile solüsyon oluşturulmuştur. Bakteriler bir petri kabı kültür plakası içine yerleştirilmiştir [227]. Bakteriler istenilen özelliklere ulaştıktan sonra belirlenen deney prosedürü takip edilmiştir.

4.2.2. Atım ve süper atım modlarının tekli oksijen molekülü miktarına etkisi

Fotosensitizanlar reaksiyon tipleri açısından Tip I ve Tip II şeklinde iki kategoriye ayrılmaktadır. Klinik uygulamalarda kullanılan ışığa duyarlı hale getiricilerin birçoğu, nekroza ve / veya terapatik etkilere neden olma sırasında fototoksik ajan olarak tekli oksijen üreten Tip II reaksiyonuna sahiptir. Tip II reaksiyonda, uyarılmış bir fotosensitizandan yüksek enerjili üçüncü enerji seviyesine sahip (triplet) oksijene enerji transferi oluşmaktadır. FDT sırasında en önemli sitotoksik ajan olan tekli oksijen [$^1\text{O}_2$] triplet oksijenin temel duruma dönmesi sırasında oluşan ışıma ile takip edilebilmektedir. FDT'nin etkinliği tekli oksijenin 1270 nm de yaptığı bu ışıma ile direkt olarak ilişkilendirilebilmektedir. SOED yöntemi tekli oksijeni matematiksel olarak hesaplamak için kullanılmıştır. Preklinik ve klinik FDT uygulamalarda bu yöntem kullanılabilmektedir. Birçok çalışma ışığın akısı ve FS konsantrasyonunu ölçmeyi amaçlamaktadır. Mevcut yöntemler, dokudaki oksijen konsantrasyonunu ölçmeye odaklanmaktadır, ancak bu çalışmalar pre-klinik seviyede kalmaktadır. Bu sebeple tekli oksijenin farklı ışıma modlarında, farklı ortamlarda, farklı yapılarda gerçek zamanlı olarak ölçülmesi ve hesaplamaların da bu ölçümler ile olan korelasyonuna bakılması bu alandaki uygulama etkinliğini arttırmak için önemlidir.

Tezin bu bölümünde atım süresi, atım frekansı ve ışık akısının $^1\text{O}_2$ üretimi üzerindeki etkisi hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalar, [$^3\text{O}_2$] tüketimi ve [$^1\text{O}_2$] üretiminin, atım modu ışıma parametrelerinin ayarlanmasıyla belirlenebileceğini göstermiştir [23, 46, 52]. Tip II süreçlerine dayanarak, fotofiziksel parametrelerin temel alındığı reaksiyonlar için denklem parametreleri belirlenmiş ve fonksiyonlar oluşturulmuştur [103, 138, 229]. Tekli oksijen konsantrasyonunun zamana bağlı etkileşimlerini hesaplamak için zamana bağlı diferansiyel denklemler kullanılabilmektedir. Bu nedenle, tekli oksijen [$^1\text{O}_2$] miktarı; ışığa duyarlılaştırıcı [S_0] ve temel enerjiye sahip oksijen [$^3\text{O}_2$] etkileşimlerini tanımlamak için belirli fonksiyonlar kullanılarak [46] ile verilen referansta tanımlanan parametreler ile hesaplanabilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda bazı FS'ler için in vivo ortama ait fotofiziksel parametreler incelenerek tekli oksijen üretiminde makroskopik modeller oluşturulmuştur [229-234]. Ancak, bu hesaplamalar CW içeren uygulamalar için geçerlidir. Atım modları için, tekli oksijen konsantrasyonunu hesaplamayı amaçlayan çalışmalar

bulunmaktadır. SODS sisteminin ışıma gürültüsünden en az etkilenmesi amacı ile atım modlarına uygun tekli oksijen molekülü oluşma seviyesi modifiye edilmiş SOED yöntemi ile hesaplanmıştır.

Atım modları ile tekli oksijen oluşma eşik değerlerini içeren moleküler üretim seviyelerini hesaplamak için kullanılan diferansiyel denklem 4.1 ve 4.4 arasında verilmiştir. $^3O_2$ tüketimi, ışığa duyarlılaştırıcı foto-boyanma katsayısı ve oksijenlenme hızı, atım modları için referans [146] ve [210]'te bulunan değerler ile atım modlarına nispeten daha uygun bir şekilde modifiye edilmiş ve yapılan deneylerde kullanılmıştır.

$$\frac{d[S_0]}{dt} + (\xi\sigma \frac{I([S_0] + \delta[{}^3O_2])}{[{}^3O_2] + \beta})[S_0] = 0 \quad (4.1)$$

$$\frac{d[{}^3O_2]}{dt} + \left(\xi \frac{I[S_0]}{[{}^3O_2] + \beta} \right) [{}^3O_2] - g \left(1 - \frac{I[{}^3O_2]}{[{}^3O_2](t=0)} \right) = 0 \quad (4.2)$$

$$\frac{d[{}^1O_2]}{dt} - (\xi \frac{I[S_0]}{[{}^3O_2] + \beta})[{}^3O_2] = 0 \quad (4.3)$$

$$[{}^1O_2]_{cumulative} = \int (\xi \frac{I[S_0]}{[{}^3O_2] + \beta}) [{}^3O_2] dt \quad (4.4)$$

Yukarıdaki denklemlerde gerekli olan parametrelerin açıklamaları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Deneyler için atım modları ile yapılacak deneyler için MB fotofiziksel parametreleri

Fotofiziksel ve Fotokimyasal parametreler		
[S ₀]	Temel seviye fotosensitizan konsantrasyonu	
I	Işık akı seviyesi	
[³ O ₂]	Triplet oksijen konsantrasyonu	
[¹ O ₂]	Tekli oksijen konsantrasyonu	
ξ	Oksijen tüketim hızı	3.70x10 ⁻³
β	Triplet oksijen tükenme katsayısı	11.90 – k ₄ /k ₂
δ	Düşük fotosensitizan seviyesi katsayısı	33

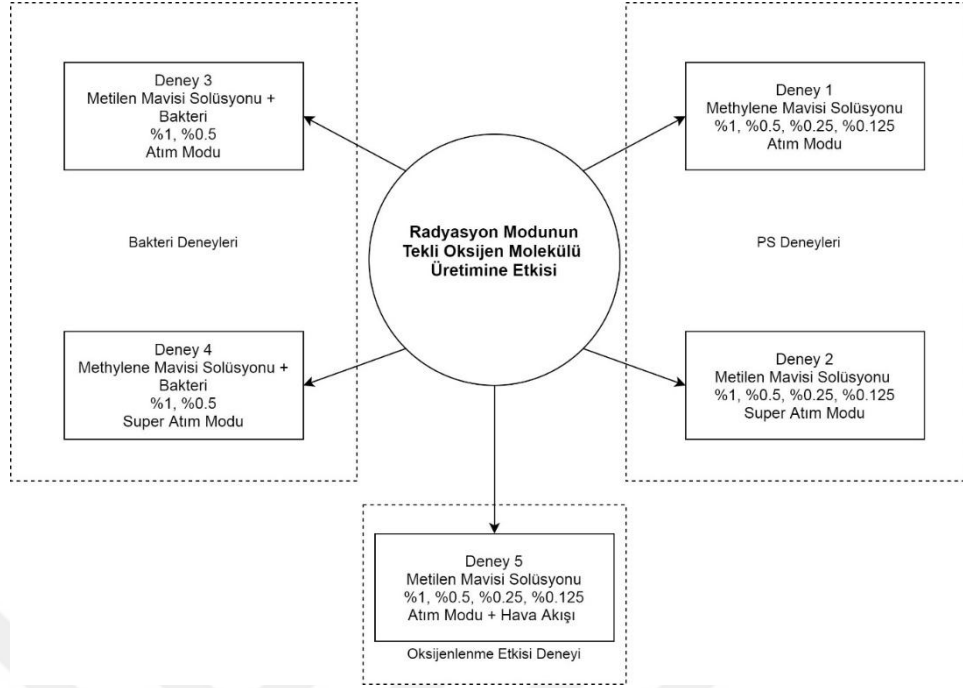
Tablo 4.1. (Devamı)

σ	Foto-boyanma parametresi	$7.60 \times 10^{-5} k_1 / (k_7[A])$
g	Maksimum oksijenlenme seviyesi	
$\mu s\text{-cm}^{-1}$	Optik saçılma katsayısı	13.46
$\mu a\text{-cm}^{-1}$	Optik emilim katsayısı	1.03

ξ , β , δ , σ , g parametreleri ve MB'ye ait değerler referans [231] ve [210]'da bulunan parametrelerden alınmıştır. Bu parametreler, her atım sonrası anlık tekli oksijen foton sayısı hakkında bilgi sahibi olmak ve tüm deney sonunda kümülatif tekli oksijen konsantrasyonunu hesaplamak için kullanılmıştır. Tüm hesaplamalar Matlab ortamında gerçekleştirilmiştir. (Matlab MathWorks, Natick, MA, ABD).

4.2.3. Deneyel süreç

Bu kısımda, dezenfeksiyon sonucuna aktif olarak etki eden foton sayısını nicel olarak ölçmek için beş farklı deney gerçekleştirilmiştir. Bu deneyler, Şekil 4.1.'de özetlenmiştir.



Şekil 4.1. Çalışmanın deneysel yapısı

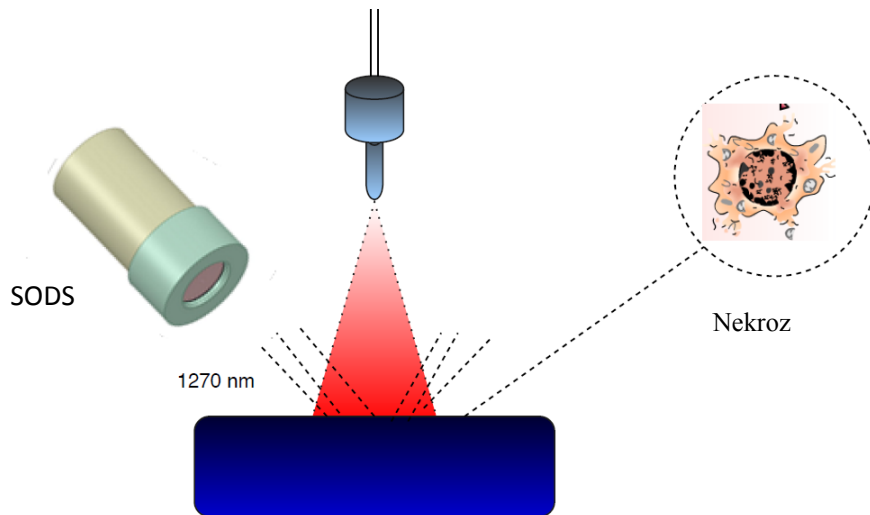
Deney 1 ve Deney 2, FS deneyleri olarak adlandırılmıştır. Bu iki deneyde amaç FS sınır değerlerini ve foton sayısını belirlemek amacıyla bakteri içermeyen MB çözeltileri deneysel olarak incelemektedir. Bu deneylerde damıtılmış su çözeltisi ile %1, % 0,5, % 0,25, % 0,125 oranlarında MB kullanılmıştır. Deney 1 ve Deney 2’de sırasıyla atım ve süper atım modları kullanılmıştır. Daha sonra ışıma modlarının MB çözeltileri üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Deneyler sırasında atım ve süper atım modları için düşük konsantrasyonların dalga şekillerinin (%0.25 ve %0.125) birbirinden ayırt edilemediği gözlenmiştir. Temel dalga şekillerinin alınabilmesi ise SOED yöntemi açısından olumlu olarak görülmektedir. SOLD yöntemine göre ölçülen tekli oksijen luminesans seviyesi bu konsantrasyonlar için alınabilmiş fakat birbirinden ayıramayacak kadar az fark gözlemlenmiştir. Dolayısıyla %0,25 ve %0,125 konsantrasyonları diğer deneyler için kullanılmamıştır.

Deney 3 ve Deney 4 bakteri deneyleri olarak adlandırılmıştır. Bu iki deneyde amaç 100 ul bakteri içeren MB çözeltileri atım modları ile incelemektir. Bu deneyler sırasında, damıtılmış su çözeltisi ile MB konsantrasyonu %1, % 0,5 olarak belirlenmiştir. Deneyler ışıma modlarının AmFDT uygulaması için SA üzerindeki

etkisini incelemek için gerçekleştirilmiştir. Deney uygulama sonrası, besiyeri içeren petri kaplarında bakteri ekimi yapılmıştır. SA hayatta kalma oranları sırası ile 30 dakikalık, 1 saatlik ve 3 saatlik süreler için incelenmiştir.

Deney 5'te, damıtılmış su çözeltisi ile %1 ve %0,5'lik MB çözeltileri kullanılmıştır. Deneyde, MB çözeltisi etrafında sürekli bir hava akışı üretmek için hava pompası yardımıyla basit bir oksijen tedarik mekanizması oluşturulmuştur. Deney ile MB çözeltileri için tekli oksijen konsantrasyonunun basit bir oksijenlenme mekanizması ile incelenmesini hedeflemektedir.

Tüm deneylerde, kullanılan ışık kaynağının dalga boyu MB'nin maksimum emilim bandı olan 660 ± 10 nm arasında ayarlanmıştır. Işık kaynağı bu dalgaboyunda MPTL altyapısını kullanmaktadır. Atım ve süper atım modlarında her bir atım için sırasıyla açık kalma süresi olarak 50 us ve 200 ns'lik süreler olarak ayarlanmıştır. Optik güç kararlılıkları deney sırasında güç ölçer ve spektrometre (PM100 ve C serisi spektrometreler, Thorlabs, Almanya) kullanılarak her deney öncesi kontrol edilmiştir. Sinyal kayıt özelliğine sahip SODS sistemi, 1270 nm'de tekli oksijen lüminesansını ölçmek için kullanılmıştır. Deney düzeneği Şekil 4.2.'de gösterilmektedir. Yürütülen deneyler için ışıma parametreleri ise Tablo 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Tekli oksijen molekülü ölçümü için tasarlanan deney düzeneği.

Şekil 4.2.'de verilen düzenek kullanılarak her bir atım sonrası oluşan ve tüm deney boyunca oluşan 1270 nm dalga boyuna sahip foton miktarı kaydedilebilmektedir. Her atım için foton sayımı ve deney boyunca oluşan tekli oksijen lüminesansı SOED ile hesaplanmış ve SOLD ile ölçülmüştür. Daha sonra, elde edilen sonuçlar bu dozimetri sistemlerinin performansını değerlendirmek amacıyla karşılaştırılmıştır. Atım sonrası oluşan tekli oksijen molekülünün oluşması ile ortaya çıkan foton sayısının azalma durumu, FS ve ışıma enerjisi hedeflenen ortamda mevcut olsa dahi tedavi hipoksik ortam nedeniyle etkisini kaybetmektedir. İki yöntemin birlikte kullanılarak sonuçların karşılaştırılması birbiri ile olan ilişkilerini daha net ortaya koyarak gerekli durumda seçim yapılabilmesi veya birlikte kullanılabilmelerinin mümkün olup olmadığı konusunun araştırılması için gerçekleştirilmiştir.

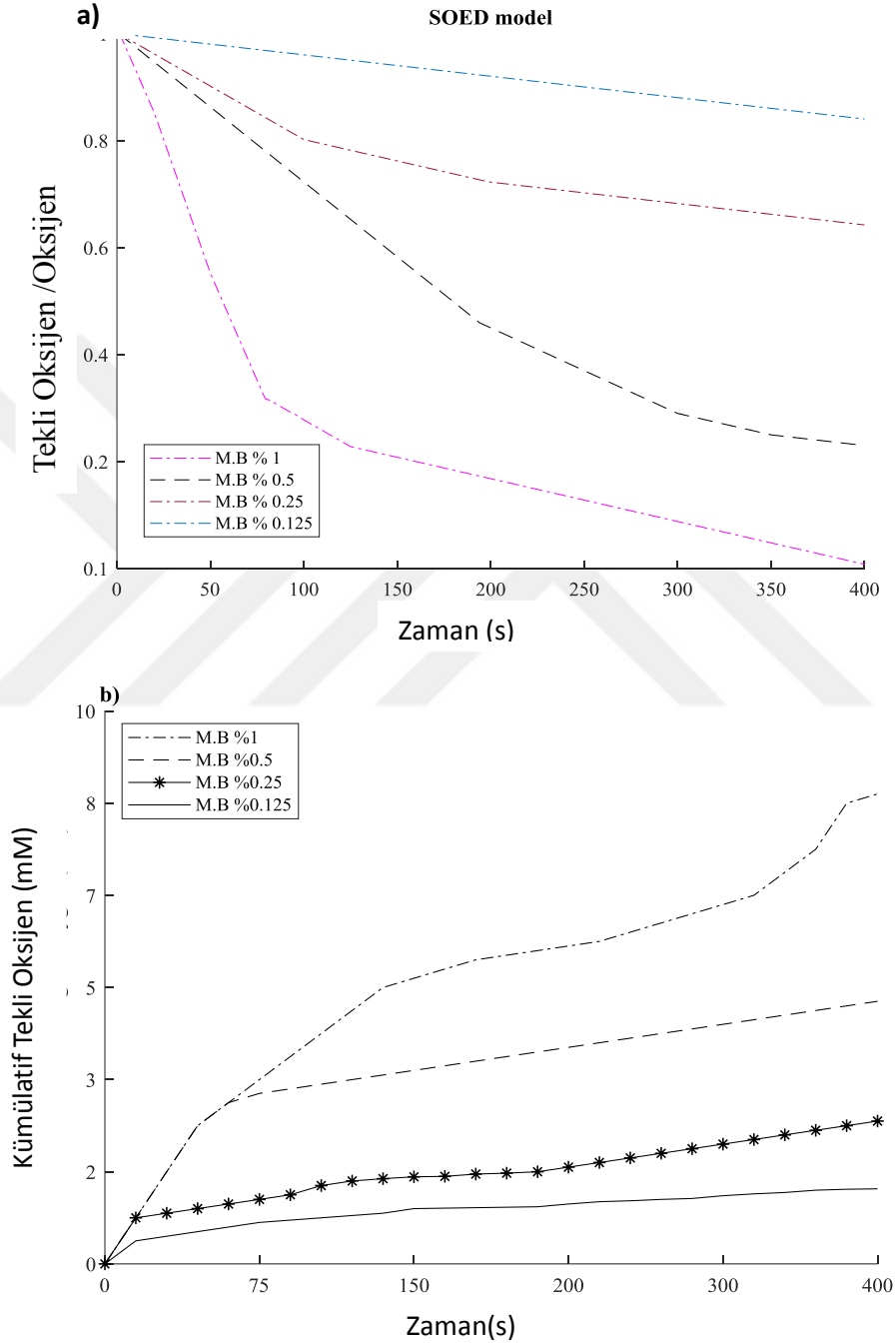
Tablo 4.2 Gerçekleştirilen deneylerin ışıma parametreleri.

Işıma Parametreleri	
Dalga Boyu (nm)	660 ±10 nm
Işıma Modu	Atım Modu, Süper Atım Modu
Optik Güç Çıkışı	100 mW, 300mW
Uygulama Zamanı (s)	200 s, 200 s (periyot)
Enerji Yoğunluğu (J/cm ²)	10 (J/cm ²)
FS	MB

4.3. DeneySEL Sonuçlar

Bu bölümde yapılan deneylerin sonuçları verilmiştir. Deneyler sırasında MB çözeltisi optik saçılma ve soğurma katsayıları kullanılarak incelenmiştir. FS çözeltisi, oksijen [³O₂] ve FS konsantrasyonunun [S₀] zamana bağlı olarak 660 nm'de atım ve süper atım ışıma modları altındaki aktiviteleri incelenmiştir. FS çözeltisinin tekli oksijen konsantrasyonu açısından sınırları belirlenmiştir. Tekli oksijenin zamana bağlı kümülatif konsantrasyonu SOED kullanılarak hesaplanmıştır.

MB'nin fotofiziksel parametreleri ve in vitro tabanlı makroskopik modeli mevcut literatürden alınmıştır [171, 229]. SOED yöntemi kullanılarak hesaplanan tekli oksijen konsatrasyon değerleri Şekil 4.3.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. SOED yönteminin hesaplamaları, a) Hesaplanan $[^3\text{O}_2]$ değeri ve temel durumdaki $[^3\text{O}_2]_0$ oksijen miktarı b) Ortalama değere ait $[^1\text{O}_2]_{\text{rx}}$ miktarı.

MB için $\phi_0 = 100 \text{ mW/cm}^2$ ışık akısı ve FS yok olma katsayısı kullanılmıştır. Bakteri içermeyen MB limit değerleri, farklı oranlar için Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. Kümülatif

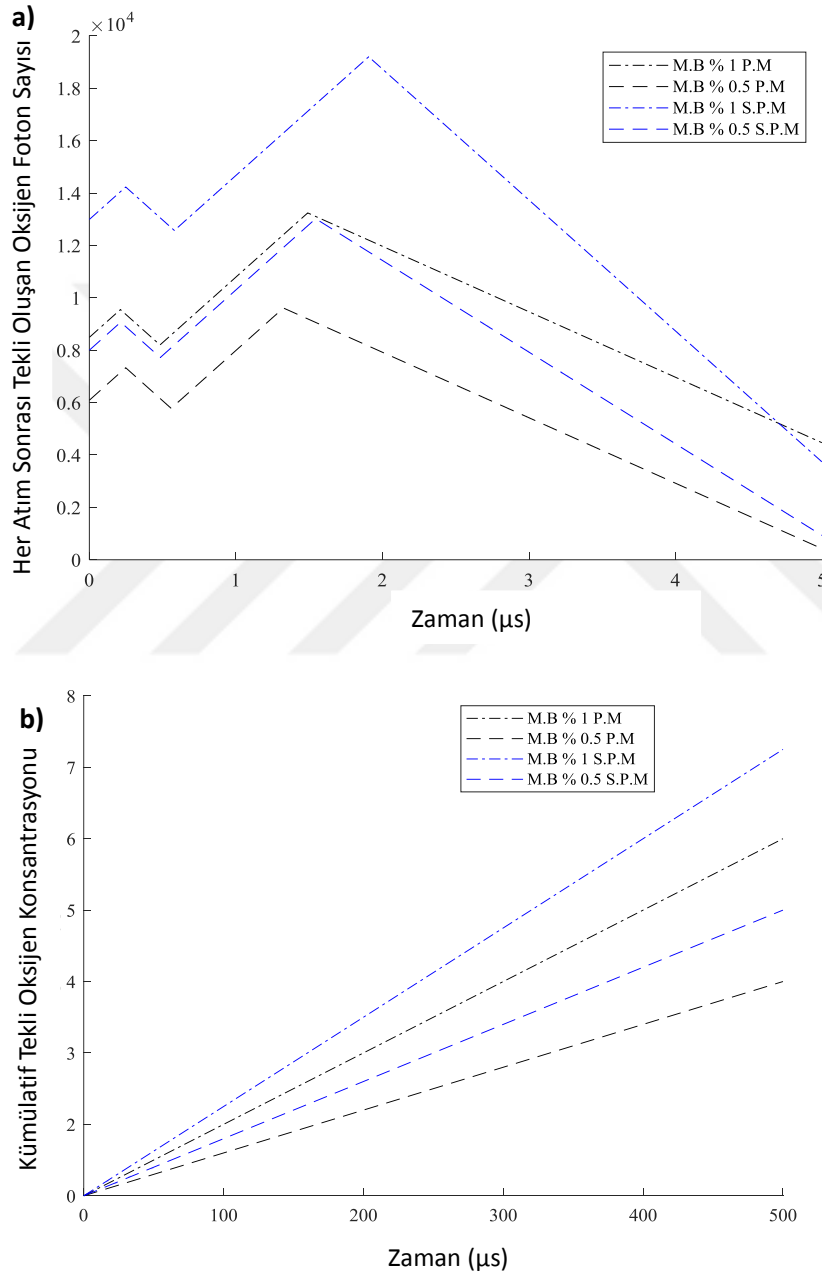
tekli oksijen konsantrasyonu MB için 7-8 mM değerinde hesaplanmıştır. Hesaplamalar beş kere yapılarak ortalaması alınmıştır. Tüm parametreler %0.01 oranında değiştirilerek gerçek ortam değişikliklerinin yapay olarak hesaplama sırasında gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir. İn vitro için gerekli MB sınır parametreleri SOED hesaplamaları ile doğrulanmıştır (Şekil 4.3 ve Şekil 4.6). Temel durumdaki bölgesel oksijen tükenme hızı daha doğru bir FDT dozimetrisi hesabı yapabilmek amacı ile hesaba katılmıştır.

4.3.1. SOED/SOLD foton sayısı karşılaştırmaları

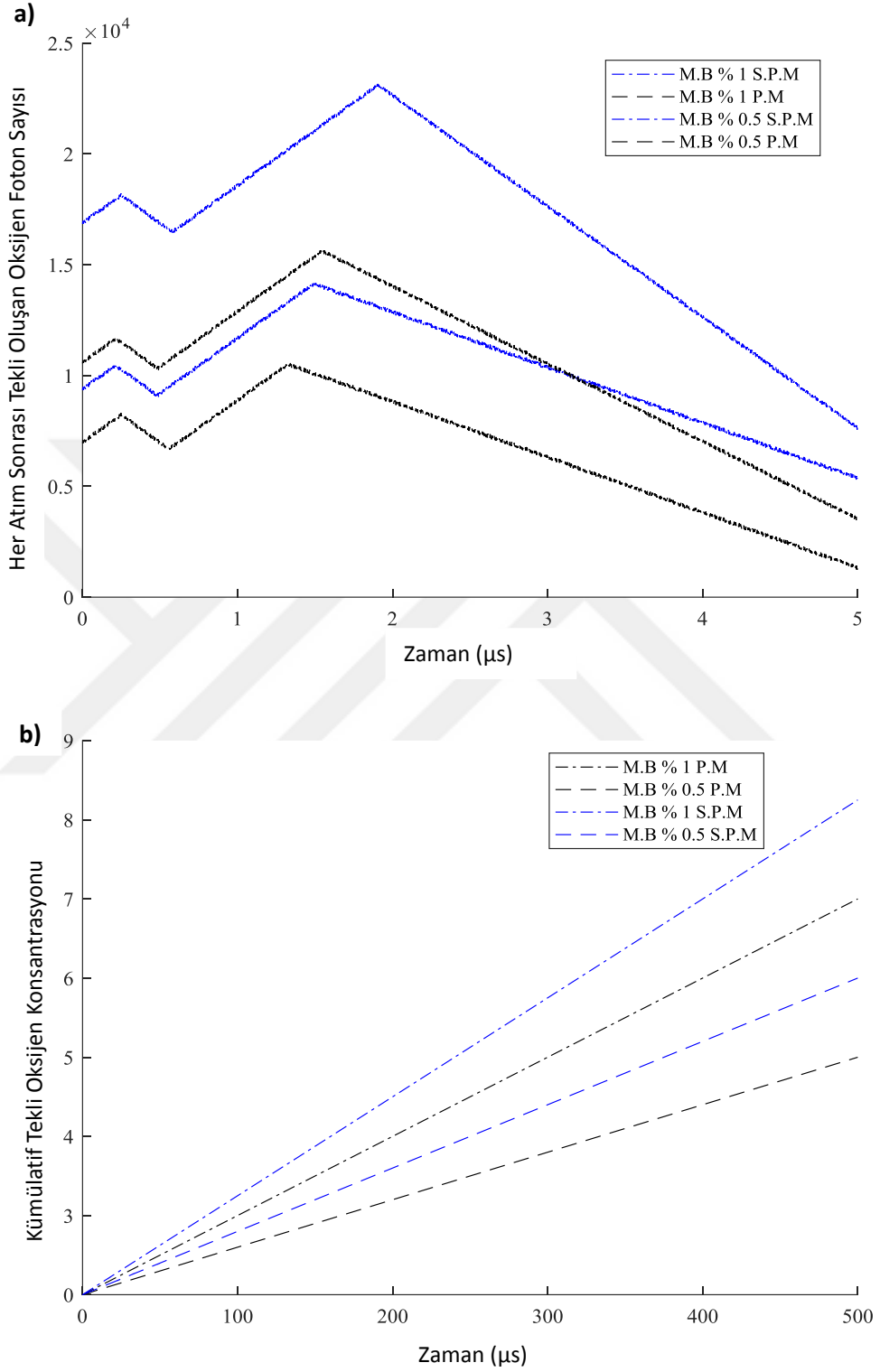
MB çözeltilerinde üretilen tekli oksijen miktarı SOED yöntemi ile hesaplanarak elde edilen sonuçlar SOLD yöntemi ile belirlenen tekli oksijen luminesans seviyesi ile karşılaştırılmıştır. Halihazırda üretilen anlık tekli oksijen miktarı ile kümülatif olarak üretilen tekli oksijen miktarı arasındaki ilişki ortaya çıkarılmıştır. Toplam anlık tekli oksijen sayısının integrali, tüm ışıma süresi boyunca kümülatif oksijen miktarını elde etmek için kullanılmıştır. SOED ve SOLD yöntemleri arasındaki korelasyon Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Şekil 4.4. (a)'da her atım sonrası Şekil 4.4. (b)'de ise toplam SOLD yöntemi ile alınan ölçümlerin sonucu elde edilen foton sayısının integrali gösterilmiştir.

FDT sırasında toplam tekli oksijen üretim hızı oksijen tüketim oranına bağlıdır. Oksijen tüketim oranı, ışığa duyarlılaştırıcı konsantrasyonu azaltılarak veya ortalama ışık akısı azaltılarak elde edilebilmektedir. Toplam ışık akısını azaltmanın iki yolu bulunmaktadır. Bunlardan ilki düşük optik güce sahip CW modunu kullanmak, ikinci yol ise atım modu kullanılmasıdır [210]. Bu sebeple, atım modlarının verimliliği deneyler sırasında analiz edilmiş ve görülen optimum durum raporlanmıştır. Birinci ve ikinci deneyler ile atım ve süper atım modlarının radyasyon etkileri % 1 ve % 0.5'lik MB çözeltisi için tekli oksijen molekülü üretimi açısından sınır değerlerinin ortaya çıkarılmasını sağlamıştır. Üçüncü ve dördüncü deneylerde ise, PM ve SPM modlarının, bakteri ihtiva eden % 1 ve % 0,5 MB çözeltileri üzerindeki etkilerini incelemek için gerçekleştirilmiştir. Deneylerden sonra, bakteri çözeltiler petri ve petrifilm SA'un yaşam ölüm oranlarını çıkarmak üzere kültüre etme işlemleri için

kullanılmıştır. Hayatta kalan SA miktarını belirlemek için 30 dakikalık, 1 saatlik ve 6 saatlik analizler yapılmıştır. Beşinci deneyde, MB çözeltisinin oksijenlenmesini değerlendirmek için hava akışı içeren basit bir deney düzeneği oluşturulmuştur. Deneylerdeki ölçümler tasarlanan SODS sistemi ile gerçekleştirilmiştir [211].



Şekil 4.4. Birinci ve ikinci deneyler için, a) Her atım sonrası anlık tekli oksijen konsantrasyonu, b) Kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu



Şekil 4.5. Üçüncü ve dördüncü deneyler için, a) Her atım sonrası anlık tekli oksijen konsantrasyonu, b) kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu

Şekil 4.4. ve Şekil 4.5. zamana bağlı tekli oksijen konsantrasyonundaki değişimi göstermektedir. Her deney aynı prosedür kullanılarak beş kez tekrarlandıktan sonra grafikler elde edilen verilerin ortalama değeri kullanılarak çizdirilmiştir. Işık kaynağının gürültüsünden kaynaklanan nanosaniye düzeyindeki ilk maksimum nokta, kümülatif tekli oksijen konsantrasyonunun hesaplanmasında ihmal edilmiştir (Şekil 4.4. (a) ve 4.5. (a)). Daha yüksek anlık optik güç nedeniyle, beklendiği gibi süper atım daha yüksek bir başlangıç tekli oksijen konsantrasyonu oluşturmaktadır.

Tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) üretimi, diğer bir deyişle birinci ve ikinci deneyler için $^3\text{O}_2$ tüketim değerleri, Şekil 4.4.'de gösterilmektedir. Şekil 4.5., üçüncü ve dördüncü deney tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) üretimi ve $^3\text{O}_2$ tüketim değerlerini göstermektedir. Bu değerler, atım ve süper atım modlarının FDT'nin etkinliği hakkında değerli bilgiler sağlayan tekli oksijen üretimi üzerindeki etkisini göstermek için yorumlanabilmektedir. Şekil 4.4.'den görülebileceği gibi, %1 ve %0.5 MB çözeltileri için ışıma modlarının tekli oksijen konsantrasyonu üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Şekil 4.5., ışıma modlarının, bakteri ihtiva eden % 1 ve % 0.5'lik MB çözeltisi için tekli oksijen konsantrasyonunu etki ettiğini de göstermektedir. Atım modundaki radyasyon, maksimum ışık akısı, atım süresi ve atımlar arası tekrarlama zamanı ile tanımlanmaktadır. Atımlar arasındaki bekleme süresi, oksijenlenme nedeniyle hücrelerdeki oksijen konsantrasyonunun artmasına sebep olmaktadır. Atım modunda, yapılan deney, kümülatif tekli oksijen konsantrasyonunun mevcut çalışmalarda belirtildiği gibi arttığını göstermektedir [210]. Süper atım modunda ışıma, maksimum ışık akısı ve atım süresi ile karakterize edilmektedir. Optik güç daha küçük atım süreleri ile hedefe ulaştırılmaktadır. Su bazlı çözeltilerde, bakteri ihtiva eden su bazlı FS temelli çözeltilerde ve dokuda ışığın penetrasyon derinliği süper atım modunda nispeten daha yüksek olmaktadır. Şekillerden görüldüğü gibi, deneyler sırasında süper atım modu ile anlık ve kümülatif tekli oksijen konsantrasyonlarının arttığı görülebilmektedir. Tekli oksijen üretiminin artması, daha fazla hücrenin nekroz ve apoptoz yolları ile ölmesine sebep olmaktadır. Tekli oksijen konsantrasyonundaki kümülatif artış, başarılı bir tedavinin önemli bir göstergesidir.

Sonuç olarak, süper atım modunun tekli oksijen üretim seviyesi, aynı optik enerji seviyesine göre atım modundan nispeten daha yüksek seviyelerde gerçekleşmektedir. Üçüncü ve dördüncü deneyler için, bakteri solüsyonu tedavi sonrası ve tedavi öncesi karşılaştırılmıştır. İnaktive edilmiş SA bakterilerinin yüzdesi Tablo 4.3.'te gösterilmiştir. Tablo 4.3.'e göre, süper atım modu, atım modundan nispeten daha başarılı bir AmFDT uygulaması gerçekleştirilmesini sağlamıştır.

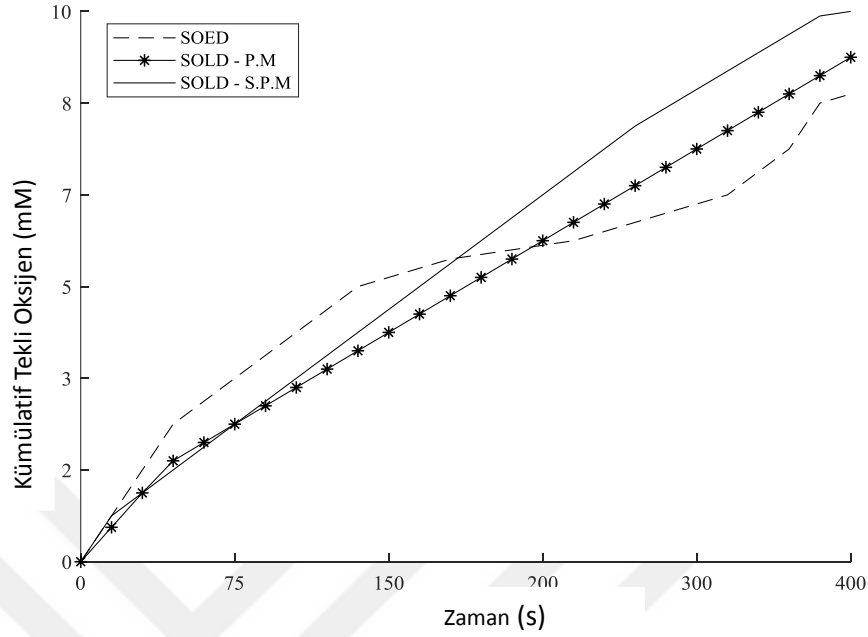
Tablo 4.3 SA tedavi sonrası inaktivasyon yüzdesi

FS/Mod	İnaktive Bakteri (%)	Hayatta Kalma Oranı (%)
10 Dakika		
M.B %0,5 PM	65.32 ± 3.98	34.68 ± 3.98
M.B %1 PM	69.56 ± 4.78	30.44 ± 4.78
M.B %0,5 SPM	66.45 ± 3.58	33.55 ± 3.58
M.B %1 SPM	72.87 ± 4.89	27.13 ± 4.89
30 Dakika		
M.B %0,5 PM	72.23 ± 3.98	27.77 ± 3.98
M.B %1 PM	76.12 ± 4.78	23.88 ± 4.78
M.B %0,5 SPM	72.33 ± 3.58	27.67 ± 3.58
M.B %1 SPM	79.65 ± 4.89	19.35 ± 4.89
1 Saat		
M.B %0,5 PM	84.23 ± 2.55	15.77 ± 2.55
M.B %1 PM	87.12 ± 3.97	12.88 ± 3.97
M.B %0,5 SPM	86.65 ± 4.78	13.45 ± 4.58
M.B %1 SPM	89.33 ± 4.58	10.77 ± 4.78
6 Saat		
M.B %0,5 PM	88.22 ± 2.55	11.88 ± 1.98
M.B %1 PM	95.23 ± 1.98	05.77 ± 2.55
M.B %0,5 SPM	90.65 ± 2.89	09.45 ± 1.12
M.B %1 SPM	98.35 ± 1.12	01.65 ± 2.89

Daha önce belirtildiği gibi, beşinci deneyde MB çözeltisi etrafında basit bir hava akışı oluşturulmuştur. Ölçümler, hava akışının deneyler sırasında anlık tekli oksijen üretimi seviyesi üzerinde etkisi olmadığını göstermektedir. İlk dört deneyde, FS emilimi ve hipoksiye bağlı olarak ~ 5000 atımdan sonra anlık tekli oksijen üretimi azalmaya başlamıştır. Beşinci deneyde ise, mevcut tekli oksijen üretimi ~ 5550 atımdan sonra azalmaya başlamıştır. Sonuç olarak, beşinci deney için kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu, Deney 1 ve Deney 2'ye göre nispeten daha yüksek olarak ölçülmüştür.

Tekli oksijen hesaplamalarına ek olarak, SOED ve SOLD yöntemleri ile ölçülen kümülatif tekli oksijen miktarı, gerçekleştirilen tüm deneyler için karşılaştırılmıştır. 400 saniye tedavi süresini seçmenin temel nedeni, bu süre zarfında 10 J enerji seviyesinin kullanılmasıdır. Bu enerji seviyesi, SA AmFDT uygulamaları için daha önce literatürde denenmiş bir enerji seviyesidir [171, 229, 210, 212]. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.6.'da gösterilmektedir. SOED ve SOLD yöntemleri (atım ve süper atım modları için) ile elde edilen ölçümler arasındaki ortalama fark yaklaşık %7-%10 arasında değişmekte ve $\pm 0,5$ hata oranında gerçekleşmektedir. Bu fark tedavi için kabul edilebilir bir hata varyansına sahiptir dolayısıyla tedavi sonucunun yorumlanmasında kullanılabilir. SOED modelinin başarı seviyesi laboratuvar deneyleri için nispeten düşük olsa da düşük maliyeti sayesinde SOLD yöntemi yerine kullanılabilmesinin uygun olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, kesin ve gerçek zamanlı bilgi için SOLD bazlı tekli oksijen ölçümü en doğru bilginin alınmasını sağlamaktadır. SOED modelinin başarısı belli bir süre sonra belli olması yönü ile bir dezavantaja sahiptir.

Özetle, daha yüksek FS dozlarında tekli oksijen $^1\text{O}_2$ üretimi süper atım modunda; atım moduna nispeten daha etkili olmuştur. Deney ortamında uygun bir hava akışı oluşturmak, kümülatif tekli oksijen konsantrasyonunu düşük oranlarda da olsa artırabilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle, ışıma modları ve basit oksijenasyon tekniklerinin AmFDT uygulamaları için kullanılabileceği görülmektedir. SOLD tabanlı cihazlar klinik kullanım için yüksek maliyete sahiptir. SOED tabanlı yöntemler ise tedavi hakkında anlık bilgi sağlayamamaktadır.



Şekil 4.6. SOED ve SOLD yöntemleri ile elde edilen kümülatif tekli oksijen miktarının karşılaştırılması.

4.4. Araştırma Bulguları ve Tartışma

SODS sistemin en önemli avantajlarından biri, FDT sırasında tekli oksijen molekülünün izlenmesi için özel olarak tasarlanmış olması ve düşük maliyetidir. Ek olarak sistem; verimliliği, yansıma önleyici kaplamalı optik kolimatörü ve yansıma önleyici özelliğe sahip filtreleri ile tekli oksijen molekülü için özel bir tasarıma ve klinik kullanım için yüksek bir potansiyele sahiptir. Yapılan tartışmalar ışığında, önerilen SODS sisteminin daha sonraki deneysel analizlerden sonra klinik FDT uygulamaları için iyi bir aday olacağı sonucuna varılabilir. Bu amaçla geliştirilen sistem laboratuvar ortamındaki performansı açısından da değerlendirilmiştir.

Yapılan çalışmalara ve analizlere göre kararlı ölçümlerin alınabilmesi için farklı ışıma modları içermesi durumunda dahi kararlı bir ışık kaynağının kullanılması düzgün tekli oksijen lüminesans ölçümlerini doğru bir şekilde yapabilmek için gereklidir. Kullanılan ışık kaynağının kararlı bir çıkışa sahip olmaması durumunda tekli oksijen lüminesans değerindeki değişimlerin, oksijen azalmasından mı, ışık kaynağından mı kaynaklı olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bu sebeple tezde SODS sistemi ile

birlikte kullanılabilecek MPTL ışık kaynağının geliştirilmesi ile bu sorun ortadan kaldırılmıştır. Işık kaynağının ışıma modları birden çok soruna çözüm olabilmeleri açısından çok önemlidir.

Yüksek ışık akısı seviyelerinde, yüksek $^3\text{O}_2$ varlığında $^1\text{O}_2$ üretilirse fotodinamik uygulamalar son derece etkili olabilmektedir. Bu sınırlı oksijen difüzyonu ve çözünürlüğü nedeniyle gerçek biyolojik sistemlerde mümkün değildir. Düşük ışık akısının kullanılması, $^1\text{O}_2$ 'nin kümülatif konsantrasyonlarının yükselmesine ve $^3\text{O}_2$ tüketiminin azalması nedeniyle daha uzun bir tedavi süresine neden olmasından dolayı az tercih edilmektedir. Ayrıca, hedef ortamdaki sınırlı oksijen konsantrasyonu nedeniyle, deneyler laboratuvar ortamında dahi iyi sonuçlar vermemektedir [212, 140]. Hedef dokuda hipoksiye ve termal hasara neden olmayan ışıma modları FDT uygulamaları için araştırılmaktadır. Hedef ortamdaki uygulama alanının hipoksik olmaması ve termal hasara uğramaması için farklı modlara sahip yeni nesil FDT ışık kaynaklarının kullanılması büyük önem taşımaktadır. Atım ve süper atım modlarına sahip ışık kaynakları ve makroskopik model dozimetri yöntemleri çeşitli FDT uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır [210, 213,214-103].

Tezin son bölümünde ışıma modlarının tekli oksijen üretimi üzerindeki etkisi çeşitli dozimetri yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Dördüncü bölümde verilen Deney 1, 2, 3 ve 4'te, farklı deneysel ortamlar için anlık ve kümülatif tekli oksijen konsantrasyonları geliştirilen SODS sistemi ile ölçülmüştür. Tekli oksijen üretimi ve oksijen tüketimi atım ve süper atım ışıma modları için incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ışıma modlarının tekli oksijen üretimi üzerinde üretimi artırıcı yönde bir etkisi bulunmaktadır. Daha başarılı bir tedavi için atım ve süper atım modlarının uygulamalarda kullanılabilmek özelliğine sahip olduğu görülmüştür. Süper atım modu, atım moduna göre % 3-%10 daha fazla tekli oksijen konsantrasyonu oluşturmaktadır. İn vitro deneylerde nispeten daha yüksek bir bakteri ölümüne neden olduğu görülmektedir (Tablo 4.3.). Deney 5'de temel bir oksijenlenme düzeneği ile kümülatif tekli oksijen seviyesini arttırmak ve anlık tekli oksijen üretimini daha uzun bir süre korumak mümkün olmuştur. Işıma modlarının ve oksijen tedarik mekanizmasının AmFDT'nin performansını artırabileceği kanıtlanmıştır. Bu teknikler kanser,

dezenfeksiyon, diyabetik yaralar ve enfekte protezler için kullanılabilme potansiyeline sahiptir [235, 236]. Bununla birlikte, kapalı döngü FDT tedavisi için dozimetri prosedürlerinin klinik kullanılabilirliklerinin artması amacıyla maliyet ve verim açısından geliştirilmesi gerektiği görülmektedir.

Temel olarak, FS konsantrasyonu ve dokunun optik özellikleri, anlık tekli oksijen ışımaya bağlı fosferans ölçümü ve ışık dozimetrisi ile belirlenmelidir. Literatürde SOED hesaplamaları için çeşitli metotlar mevcuttur. Bunlar arasında, makroskopik modelin hesaplanması daha olasıdır. Herhangi bir heterojen ışık kaynağı ve FS dağılımı hesaba katılarak klinik uygulamalar için kullanılabilir. Daha doğru bir dozimetri etkinliği elde edebilmek için uygulama ortamının dozimetri parametreleri, hedef ortamın optik özellikleri ve oksijenasyonunun da dikkate alınması gerekmektedir. Tezde, oksijen tüketim oranı dikkate alınarak AmFDT için atım modlarında SOED ile daha yüksek doğruluk içerebilecek bir dozimetri modeli oluşturulmuştur. SOED'in SOLD bazlı ölçümler ile birlikte kullanılması belirsizliği azaltmış ve çözümlerin tekli oksijen kapasitelerinin (Şekil 4.3., Şekil 4.6.) tekli oksijen konsantrasyonu hakkında daha net bilgi elde edilmesini sağlamıştır.

Son yıllarda çeşitli SOLD sistemleri geliştirilmiştir [165-168, 180-188]. Geliştirilen sistemler, yüksek kararlılığa sahip ölçüm mesafeleri ve karmaşık matematiksel hesaplamalar gerektirmektedir. Bu sebeple, geliştirilen sistemlerin klinik kullanımı çok mümkün görünmemektedir. Tekli oksijen ölçüm sistemlerinde kullanılan farklı teknolojiler, aynı şartlar altında yapılan deneylerde bile farklı foton sayıları verebilmektedir. Dolayısıyla tam olarak bir standart oluşturulamamıştır.

Tezin hedeflerinden biri [141] no'lu referansta verilen AmFDT uygulamasını tezde geliştirilen MPTL ve SODS sistemi ile birlikte daha başarılı bir şekilde gerçekleştirebilmektir. Bu referansta, yazarlar Photofrin ve SPAD tabanlı bir sistem kullanarak fantom ortamlar için doğrudan SOLD ölçümlerini SOED hesaplamaları ile karşılaştırmışlardır. Oksijen miktarı ve FS konsantrasyonu, SOLD modelinin güvenilirliğini doğrulamak için SOED hesaplamaları ile karşılaştırılmıştır. Daha sonra, kümülatif tekli oksijen seviyesinde kabul edilebilir bir oranda hata oranı olmasına

rağmen, SOLD ve SOED yöntemleri ile elde edilen ölçümler arasında doğrudan bir korelasyon olduğunu gösterilmiştir. Yapılan tezin son bölümünde bulunan bakteri tabanlı çalışmada da, atım ve süper atım modları için SOED ve SOLD yöntemleri arasında doğrudan bir korelasyon olduğu doğrulanmıştır. Deneylerdeki ölçümler SODS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [211]. Radyasyon modu, MB konsantrasyonu ve SA bakterileri deneylerde değişken olarak kullanılmıştır.

Tez süresince yapılan deneylerde kümülatif foton sayısının tedavi başarısını izlemek için en önemli parametre olmadığı gözlemlenmiştir. Sistemler tarafından toplam tekli oksijen miktarının kullanılan sisteme bağlı olarak değişebildiği ve sensörler tarafından tespit edilen tekli oksijen miktarı en ufak harekete dahi aşırı duyarlı olduğu görülmüştür. Bu sistemler yüksek hassasiyetleri sebebi ile ancak kontrollü laboratuvar ortamlarında kullanışlı olabilmektedirler. Duyarlılık, SNR, ölçüm mesafesi ve sensör sisteminin çapı gibi özellikler de foton sayısının hesaplanması için belirleyici faktörlerdendir. Hedef ortamdaki 1270 nm ışık yayılımı, enfekte olmuş veya kanserli hedef dokunun ve uygulama alanının geometrisi ile kolayca değişebilen bir ışık kaynağı özelliği taşımaktadır. Bu nedenle, tekli oksijen lüminesans dalga biçiminin ve alınan sisteme özel olsa dahi ilk atım sonrası alınan foton sayısının daha uzun bir süre muhafaza edilmeye çalışılmasının daha mantıklı bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu bölümde tez kapsamında elde edilen veriler yorumlanarak elde edilen sonuçlar verilmektedir. Bölüm 1’de yapılan çalışmanın katkıları kısaca şu şekilde açıklanabilmektedir: FDT tedavileri için çeşitli sistemler geliştirilmiştir ve bu ekipmanların hata yapıp yapmama durumunun kontrollü bir ortamda test edilmesi elzem bir durumdur. Sistem sınırlamaları, karmaşık laboratuvar ekipmanı kullanılmadan elektronik tabanlı fantom ortam ile araştırılabilir hale gelmektedir. SOED tabanlı tekli oksijen dosimetri modeli, ortamın birebir taklit edilmesi ile fantom ortamda kimyasallar ve kompleks laboratuvar ekipmanı kullanılmadan SOLD tabanlı ölçümlerle karşılaştırılabilir hale gelmektedir. Fantom ortam, laboratuvar ekipmanlarının kullanılmasını ve kullanıcı bazlı hataları önleyerek daha kararlı ışık seviyesi ölçümleri sağlamaktadır.

Tablo 2.1.’de önerilen çalışmanın SODS sisteminin önemli noktaları özetlenmiştir. Sistemin ana avantajı, FDT deneylerinin yapılması için kolayca erişilebilir olmasını sağlayan düşük maliyetidir. Ek olarak, verimliliği, yansıma önleyici kaplamalı optik toplayıcı lens ve yansıma önleyici özelliğe sahip filtreler ile tekli oksijen molekülü için özel bir tasarıma ve klinik kullanım için yüksek bir potansiyele sahiptir. Geliştirilen SODS sisteminin fantom ortamda denenmesi sonucu bütün sınırları kompleks laboratuvar deneyleri olmadan ortaya çıkarılmıştır. Sistemin laboratuvar deneyleri için sorunsuz bir şekilde kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Bölüm 2’de sunulan MPTL sistemi ile, gömülü sistem tabanlı elektronik sistemler ile LD sıcaklığını ve optik lazer gücünü optimize ederek FDT uygulamaları için güvenilir bir ışık kaynağı geliştirilmiştir. Bu spesifikasyonlarla, hassas bir parametre kontrolünün dalga boyu kaymalarını önlemesi ve daha etkili bir tedavi için ışığa duyarlılaştırıcıların tepe absorpsiyon noktasını oluşturabilmesi gerekmektedir.

Radyasyon modlarının uygulama bölgesinde termal hasarı ve uygulama bölgesinin optik özelliklerindeki değişiklikleri en aza indirmesi uygulama başarısı açısından büyük önem taşımaktadır. Doku örnekleri üzerindeki in vitro ölçümlerin sonuçları, sıcaklık artışının lazer sisteminin ışıma moduna bağlı olduğunu göstermektedir. Atım modlarını içeren lazerlerin uygulama alanındaki sıcaklık artışları, CW lazer radyasyonundan önemli ölçüde daha düşüktür. Literatürdeki SPM'in, tedavi sonrası rahatsız edici etkileri azalttığı, penetrasyon derinliğini nispeten artırdığı, hedef ortamda termal hasarı azalttığı ve ısıya bağlı olarak fotofiziksel parametrelerin daha kararlı olmasını sağladığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak; optimize edilmiş FDT lazer sistemi atım modları ve kapalı çevrim kontrol parametreleri sayesinde termal hasarı azaltabilmektedir. Kararlı ışık kaynağının uygulama bölgesine aynı güçte ışımayı ulaştırması ile ısı tabanlı uygulama alanında fiziksel değişimler minimuma indirilerek atımlardan sonra oluşan tekli oksijen miktarı ve tekli oksijen lüminesansının fiziksel özellikler sebebi farklı şekilde farklı saçılma özelliği göstermesini önleme potansiyeline sahiptir. Bu sebepler ile uygulama bölgesinin fiziksel özellikler açısından kararlı kalması ve oksijenlenme zamanına sahip olması da hipoksik ortam oluşumunu engellemesi sebebi ile son derece önemlidir. Literatür araştırmasından bildiğimiz kadarıyla, bu sistem dünyada FDT yöntemleri için dört farklı radyasyon modu içeren ilk sistemdir. MPTL sistemi, daha başarılı FDT tedavi seçeneklerinde önemli bir rol oynayabilme potansiyeline sahiptir. Bu sebeple bir sonraki aşamada yapılan çalışmada geliştirilen SODS sistemi ve MPTL sistemi birlikte kullanılmış ve başarılı bir AmFDT uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Tezin üçüncü bölümünde geliştirilen sistemler ile literatüre katkıda bulunulan kısımlar birleştirilerek bir gerçek hayat problemi sırasında sistemlerin tepkisi ve başarısı ölçülmüştür. Tezin tamamına bütünsel bakılması durumunda son aşamada ortaya çıkan sonuçlar toparlanmış ve sunulmuştur: FDT, enfeksiyonlar, kanser ve bazı lokalize hastalıklar için bilinen başarılı bir uygulamadır [1-4]. FDT'nin klinik bir ortamda kullanımı büyük ölçüde parametrelerin dozimetrik özelliklerine bağlıdır. Işık akı yoğunluğu, doku oksijenasyonu ve ışığa duyarlılaştırıcı dağılımının uygulama üzerinde etkileri başarının arttırılması amacıyla incelenmiştir. FDT dozu hâlihazırda

ışık akısı ve FS konsantrasyonu kullanılarak hesaplanan temel bir FDT dozimetri modeli elde etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu geleneksel modelde oksijen konsantrasyonu gibi temel parametreler dikkate alınmamaktadır. Bu çalışma, oksijenasyonun etkisini dikkate alırken, hedef ortamın fotofiziksel özelliklerinin ısıya bağlı olarak değişmesini engelleyen ve termal etkinin önüne geçebilecek şekilde yapılan bir AmFDT uygulaması için özel olarak oluşturulmuş bir deney prosedürü içermektedir. Tekli oksijen üretimi, farklı faktörler dikkate alınarak yorumlanmıştır. İlk olarak, başlangıçtaki FS konsantrasyonu ve dokunun optik özellikleri, interstisyel (yapısal-Interstitial) floresan ölçümü ve bir ışık dozimetri sistemi ile belirlenmelidir. Önerilen çalışmada, oksijen tüketim oranı dikkate alınarak AmFDT için SOED modeli kullanılmıştır. Geliştirilen dozimetrik model SOLD bazlı ölçüm belirsizliklerinin SOED modeli ile birlikte kullanılması ile tekli oksijen kapasiteleri hakkında ön bilgi sağlayarak, tekli oksijen konsantrasyonundaki değişimin uygulama sırasında oluşturacağı yorum farklılıklarını en aza indirmiştir. Ek olarak, atım ve süper atım ışıma modları için SOED ve SOLD yöntemleri arasında doğrudan bir korelasyon olup olmadığı incelenmiştir. Deneylerdeki ölçümler geliştirilen SODS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [211]. AmFDT uygulaması sırasında süper atım modunun kullanıldığı bilgimiz dahilinde literatürdeki ilk çalışma olarak geçmektedir.

Daha önce bahsedildiği gibi tezin hedeflerinden bir diğeri ise, atım ve süper atım modlarının FDT'nin etkinliği hakkında altın standart olarak kabul edilen ve en aktif bilgiyi sağlayan tekli oksijen üretimi üzerindeki etkisini göstermektir. Elde edilen sonuçlar, deneyler sırasında süper atım ışıma modunu nispeten daha yüksek anlık ve kümülatif tekli oksijen konsantrasyonu oluşmasını sağladığı göstermektedir. Mevcut tekli oksijen üretiminin artan miktarı, daha fazla hücrenin ölümüne yol açmaktadır. Tekli oksijen konsantrasyonundaki kümülatif artış, başarılı tedavinin önemli bir göstergesidir. Son olarak, kümülatif foton sayısının tedavi başarısını izlemek için tek başına yeterli olmadığı gözlemlenmiştir. Bunun nedeni ise ölçülen kümülatif tekli oksijen miktarının kullanılan sisteme bağlı olarak değişebilmesidir. Bu nedenle, foton sayısını tam olarak almak yerine, tekli oksijen lüminesansının oluşan sinyal dalga biçiminin korunması ile daha başarılı bir modele dönüşeceği düşünülmektedir. Gözlemlerimizin ışığında, gelecekteki çalışmalarımız için SOED dozimetri metodu ile

sınırları belirlenmiş dalga formu temelli SOLD tekli oksijen lüminesans dozimetresinin birlikte kullanıldığı hibrit tekli oksijen molekülü dozimetri metodunun geliştirilmesi için çalışmalar yapılacaktır.

Son olarak gelecekte yapılacak çalışmalar için ufuk oluşturan, ikincil bir çıktı olarak gözlemlerimiz ışığında hibrit bir model olan, ilk dalga formu temelli tekli oksijen lüminesans dozimetresi fikrinin klinik kullanım için iyi bir aday olabileceğini önermekteyiz. Yöntemin temel amacı, SOED yöntemi ile hesaplanmış kümülatif ve anlık değerlerin yardımı ile ölçülen ilk dalga formunun ortalama olarak sabit tutulması olarak açıklanabilmektedir. Sinyal işleme teknikleri ve başlangıç dalga formu tabanlı tekli oksijen lüminesans dozimetresi kullanılarak gömülü sistem tabanlı tekli oksijen algılama sisteminin geliştirilmesi mümkün görünmektedir. Geliştirilen sistem, FDT için bir kapalı döngü dozimetri yöntemi geliştirmek için geliştirmek amacıyla tezde sunulan ışık kaynağı ile entegre edilebilme özelliğine sahiptir. Bu yöntemlerle kompakt ve mobil tekli oksijen ölçüm sistemleri geliştirilmesinin mümkün olacağı öngörülmektedir. Geliştirilen sistem; AmFDT’de enfekte yaralarda, kanser tedavisinde ve dezenfeksiyon gibi uygulamalarda kullanılabilme özelliğine sahiptir. Ek olarak, uygulama özelinde değerlendirildiği takdirde sistemin kompakt ve anlık bilgi alabilmesi sebebi ile ameliyat düzenini ve uygulama yüzeyinin ısıya bağlı fiziksel özelliklerini bozmadan yara, protez ve doku dezenfeksiyonu için de kullanılabilmesi mümkün görünmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Raab, O. Über die Wirkung, fluorescirender Stoffe auf infusorien. Z. Biol. 1900, 39, 524–546.
- [2] Von Tappeiner, H.; Jodlbauer, A. Über die Wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) Stoffe auf Protozoen und Enzyme. Dtsch. Arch. Klin. Med. 1904, 39, 427–487.
- [3] Figge, F.H.J.; Weiland, G.S.; Nanganiello, L.O.J. Cancer detection and therapy. A study of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948, 68, 640–641.
- [4] Rasmussen-Taxdal, D.S.; Ward, G.E.; Figge, F.H.J. Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin. Cancer 1955, 8, 78–81.
- [5] Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olsen, A.M. Hematoporphyrin derivative: A new aid for endoscopic detection of malignant disease. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1961, 42, 623–629.
- [6] Lipson, R.L.; Baldes, E.J.; Olsen, A.M. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. J. Natl. Cancer Inst. 1961, 26, 1–11.
- [7] Gregorie, H.B., Jr.; Horger, E.O.; Ward, J.L.; Green, J.F.; Richards, T.; Robertson, H.C., Jr.; Stevenson, T.B. Hematoporphyrin-derivative fluorescence in malignant neoplasms. Ann. Surg. 1968, 167, 820–828.
- [8] Diamond, I.; Granelli, S.G.; McDonagh, A.F.; Nielsen, S.; Wilson, C.B.; Jaenicke, R. Photodynamic therapy of malignant tumours. Lancet 1972, 2, 1175–1177.
- [9] Dougherty, T.J.; Grindey, G.B.; Fiel, R.; Weishaupt, K.R.; Boyle, D.G. Photoradiation therapy. II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light. J. Natl. Cancer Inst. 1975, 55, 115–121.
- [10] Dougherty, T.J.; Kaufman, J.E.; Goldfarb, A.; Weishaupt, K.R.; Boyle, D.; Mittleman, A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Res. 1978, 38, 2628–2635.

- [11] Dougherty, T.J.; Lawrence, G.; Kaufman, J.H.; Boyle, D.; Weishaupt, K.R.; Goldfarb, A. Photoradiation in the treatment of recurrent breast carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 1979, 62, 231–237.
- [12] Gomer, C.J.; Dougherty, T.J. Determination of [3H]- and [14C] hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue. *Cancer Res.* 1979, 39, 146–151.
- [13] Weishaupt, K.R.; Gomer, C.J.; Dougherty, T.J. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photoinactivation of a murine tumor. *Cancer Res.* 1976, 36, 2326–2329.
- [14] Dougherty, T.J. *The Circuitous Route by a Group of Novices to a New FDA Approved Cancer Therapy*; Outskirts Press: Denver, CO, USA, 2015.
- [15] Dougherty, T.J.; Henderson, B. Historical perspective. In *Photodynamic Therapy*; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 2001.
- [16] Wieman, T.J.; Mang, T.S.; Fingar, V.H.; Hill, T.G.; Reed, M.W.; Corey, T.S.; Nguyen, V.Q.; Render, E.R., Jr. Effect of photodynamic therapy on blood flow in normal and tumor vessels. *Surgery* 1998, 104, 512–517.
- [17] Schmidt-Erfurth, U.; Miller, J.; Sickenberg, M.; Bunse, A.; Laqua, H.; Gragoudas, E.; Zografos, L.; Birngruber, R.; van den Bergh, H.; Strong, A.; et al. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization: Clinical and angiographic examples. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1998, 236, 365–374.
- [18] Si, J.K.; Tang, K.; Bi, H.S.; Guo, D.D.; Guo, J.G.; Du, Y.X.; Cui, Y.; Pan, X.M.; Wen, Y.; Wang, X.R. Combination of ranibizumab with photodynamic therapy vs. ranibizumab monotherapy in the treatment of age-related macular degeneration: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int. J. Ophthalmol.* 2014, 18, 541–549.
- [19] Pandey, R.K.; Siegel, M.M.; Tsao, R.; McReynolds, J.H.; Dougherty, T.J. Fast atom bombardment mass spectral analyses of Photofrin II and its synthetic analogs. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.* 1990, 19, 405–414.
- [20] Agarwal, M.L.; Clay, M.E.; Harvey, E.J.; Evans, H.H.; Antunez, A.R.; Oleinick, N.L. Photodynamic therapy induces rapid cell death by apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells. *Cancer Res.* 1991, 51, 5993–5996.
- [21] Moan, J.; Pettersen, E.O.; Christensen, T. The mechanism of photodynamic inactivation of human cells *in vitro* in the presence of hematoporphyrin. *Br J Cancer* 1979; 39: 398–407

- [22] Volden G, Christensen T, Moan J. Photodynamic membrane damage of hematoporphyrin derivative-treated NHIK 3025 cells *in vitro*. *Photobiochem Photobiophys* 1981; 3: 105-11
- [23] Gibson SL, Murant RS, Hilf R. Photosensitizing effects of hematoporphyrin derivative and photofrin II on the plasma membrane enzymes 5'-nucleotidase, Na⁺ K⁺-ATPase, and Mg²⁺-ATPase in R3230AC rat mammary adenocarcinomas. *Cancer Res* 1988; 48: 3360-6
- [24] Russo A, DeGraff W, Kinsella TJ, et al. Potentiation of chemotherapy cytotoxicity following iododeoxyuridine incorporation in Chinese hamster cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986; 12: 1371-4
- [25] Gomer CJ, Rucker N, Banerjee A, et al. Comparison of mutagenicity and induction of sister chromatid exchange in Chinese hamster cells exposed to derivative, ionizing radiation, or ultraviolet radiation. *Cancer Res* 1983; 43: 2622-7
- [26] Moan J, Waksvik H, Christensen T. DNA single-stranded breaks and sister chromatid exchanges induced by treatment with hematoporphyrin and light or by x-rays in human NHIK 3025 cells. *Cancer Res* 1980; 40: 2915-8
- [27] Mitchell JB, Russo A, Kinsella TJ, et al. The use of non-hypoxic cell sensitizers in radiobiology and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1986; 12: 1513-8.
- [28] Kim, H.R.; Luo, Y.; Li, G.; Kessel, D. Enhanced apoptotic response to photodynamic therapy after bcl-2 transfection. *Cancer Res.* 1999, 59, 3429–3432.
- [29] Xue, L.Y.; Chiu, S.M.; Oleinick, N.L. Photochemical destruction of the Bcl-2 oncoprotein during photodynamic therapy with the phthalocyanine photosensitizer Pc 4. *Oncogene* 2001, 20, 3420–3427.
- [30] Reiners, J.J., Jr.; Caruso, J.A.; Mathieu, P.; Chelladurai, B.; Yin, X.M.; Kessel, D. Release of cytochrome c and activation of pro-caspase-9 following lysosomal photodamage involves Bid cleavage. *Cell Death Differ.* 2002, 9, 934–944.
- [31] Kessel, D.; Vicente, M.G.; Reiners, J.J., Jr. Initiation of apoptosis and autophagy by photodynamic therapy. *Lasers Surg. Med.* 2006, 38, 482–488.
- [32] Buytaert, E.; Callewaert, G.; Vandenheede, J.R.; Agostinis, P. Deficiency in apoptotic effectors Bax and Bak reveals an autophagic cell death pathway initiated by photodamage to the endoplasmic reticulum. *Autophagy* 2006, 2, 238–240.
- [33] Kessel, D.; Oleinick, N.L. Cell death pathways associated with photodynamic therapy: An update. *Photochem. Photobiol.* 2018, 94, 213–218.

- [34] Richter, A.M.; Kelly, B.; Chow, J.; Liu, D.J.; Towers, G.H.; Dolphin, D.; Levy, J.G. Preliminary studies on a more effective phototoxic agent than hematoporphyrin. *J. Natl. Cancer Inst.* 1987, 79, 1327–1332.
- [35] Malik, Z.; Lugaci, H. Destruction of erythroleukaemic cells by photoactivation of endogenous porphyrins. *Br. J. Cancer* 1987, 56, 589–595.
- [36] Kennedy, J.C.; Pottier, R.H.; Pross, D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: Basic principles and present clinical experience. *J. Photochem. Photobiol. B* 1990, 6, 143–148.
- [37] Saenz, C.; Cheruku, R.R.; Ohulchanskyy, T.Y.; Joshi, P.; Tabaczynski, W.A.; Missert, J.R.; Chen, Y.; Pera, P.; Tracy, E.; Marko, A.; et al. Structural and epimeric isomers of HPPH [3-Devinyl 3-{1-(1-hexyloxy) ethyl}pyropheophorbide-a]: Effects on uptake and photodynamic therapy of cancer. *ACS Chem. Biol.* 2017, 12, 933–946.
- [38] Cincotta, L.; Szeto, D.; Lampros, E.; Hasan, T.; Cincotta, A.H. Benzophenothiazine and benzoporphyrin derivative combination phototherapy effectively eradicates large murine sarcomas. *Photochem. Photobiol.* 1996, 63, 229–237.
- [39] Wilson, B.C. Photodynamic therapy: Light delivery and dosage for second-generation photosensitizers. In *Ciba Foundation Symposium 146-Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use: Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use: Ciba Foundation Symposium*; John Wiley & Sons, Ltd.: Chichester, UK, 1989; pp. 60–73.
- [40] Yousefi, S.; Perozzo, R.; Schmid, I.; Ziemiecki, A.; Schaerner, T.; Scapozza, L.; Brunner, T.; Simon, H.U. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. *Nat. Cell Biol.* 2006, 8, 1124–1132.
- [41] Kessel, D.; Evans, C.L. Promotion of Proapoptotic Signals by Lysosomal Photodamage: Mechanistic Aspects and Influence of Autophagy. *Photochem. Photobiol.* 2016, 92, 620–623.
- [42] Pigula, M.; Huang, H.C.; Mallidi, S.; Anbil, S.; Liu, J.; Mai, Z.; Hasan, T. Size-dependent tumor response to photodynamic therapy and irinotecan monotherapies revealed by longitudinal ultrasound monitoring in an orthotopic pancreatic cancer model. *Photochem. Photobiol.* 2019, 95, 378–386.
- [43] Broekgaarden, M.; Rizvi, I.; Bulin, A.L.; Petrovic, L.; Goldschmidt, R.; Massodi, I.; Celli, J.P.; Hasan, T. Neoadjuvant photodynamic therapy augments immediate and prolonged oxaliplatin efficacy in metastatic pancreatic cancer organoids. *Oncotarget* 2018, 6, 13009–13022.

- [44] Rice, S.R.; Li, Y.R.; Busch, T.M.; Kim, M.M.; McNulty, S.; Dimofte, A.; Zhu, T.C.; Cengel, K.A.; Simone, C.B., II. A novel prospective study assessing the combination of photodynamic therapy and proton radiation therapy: Safety and outcomes when treating malignant pleural mesothelioma. *Photochem. Photobiol.* 2019, 95, 411–418.
- [45] Haug, M.; Brede, G.; Håkerud, M.; Nedberg, A.G.; Gederaas, O.A.; Flo, T.H.; Edwards, V.T.; Selbo, P.K.; Høgset, A.; Halaas, Ø. Photochemical internalization of peptide antigens provides a novel strategy to realize therapeutic cancer vaccination. *Front. Immunol.* 2018, 9, 650.
- [46] Kleinovink, J.W.; van Driel, P.B.; Snoeks, T.J.; Prokopi, N.; Fransen, M.F.; Cruz, L.J.; Mezzanotte, L.; Chan, A.; Löwik, C.W.; Ossendorp, F. Combination of photodynamic therapy and specific immunotherapy efficiently eradicates established tumors. *Clin. Cancer Res.* 2016, 22, 1459–1468.
- [47] Eng, M.S.; Kaur, J.; Prasmickaite, L.; Engesæter, B.Ø.; Weyergang, A.; Skarpen, E.; Berg, K.; Rosenblum, M.G.; Mælandsmo, G.M.; Høgset, A.; et al. Enhanced targeting of triple-negative breast carcinoma and malignant melanoma by photochemical internalization of CSPG4-targeting immunotoxins. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2018, 17, 539–551.
- [48] Chowdhary, R.K.; Shari_, I.; Dolphin, D. Drug release characteristics of lipid based benzoporphyrin derivative. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2003, 6, 13–19.
- [49] Rizvi, I.; Nath, S.; Obaid, G.; Ruhi, M.K.; Moore, K.; Bano, S.; Kessel, D.; Hasan, T. A combination of Visudyne and a lipid-anchored liposomal formulation of benzoporphyrin derivative enhances photodynamic therapy efficacy in a 3D model for ovarian cancer. *Photochem. Photobiol.* 2019, 95, 419–429.
- [50] Wang, S.; Hüttmann, G.; Zhang, Z.; Vogel, A.; Birngruber, R.; Tangutoori, S.; Hasan, T.; Rahmanzadeh, R. Light-Controlled Delivery of Monoclonal Antibodies for Targeted Photoinactivation of Ki-67. *Mol. Pharm.* 2015, 12, 3272–3281.
- [51] Mfouo Tynga, I.; Abrahamse, H. Nano-mediated photodynamic therapy for cancer: Enhancement of cancer specificity and therapeutic effects. *Nanomaterials* 2018, 8, 923.
- [52] Wang, S.; Kim, G.; Lee, Y.E.; Hah, H.; Ethirajan, M.; Pandey, R.K.; Kopelman, R. Multifunctional biodegradable polyacrylamide nanocarriers for cancer theranostics—A “see and treat” strategy. *ACS Nano* 2012, 6, 6843–6851.
- [53] Tuite EM, Kelly JM. Photochemical interactions of methylene blue and analogues with DNA and other biological substrates. *J Photochem Photobiol B* 1993;21:103—24.

- [54] Junqueira HC, Severino D, Dias LG, Gugliotti M, Baptista MS. Modulation of the methylene blue photochemical properties based on the adsorption at aqueous micelle interfaces. *Phys Chem Chem Phys* 2002;4:2320—8.
- [55] Severino D, Junqueira HC, Gabrielli DS, Gugliotti M, Baptista MS. Influence of negatively charged interfaces on the ground and excited state properties of methylene blue. *Photochem Photobiol* 2003;77:459—68.
- [56] S. I. Zacks, "Pathology of the neuromuscular junction," *Annals of Clinical and Laboratory Science*, vol. 5, no. 3, pp. 161–166, 1975.
- [57] G. Lang, *Histotechnik, Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik*, Springer, Berlin, Germany, 2006.
- [58] F. Kasten, "Paul Ehrlich: pathfinder in cell biology .1. Chronicle of his life and accomplishments in immunology, cancer research, and chemotherapy," *Biotechnic and Histochemistry*, vol. 71, no. 1, pp. 2–37, 1996.
- [59] F. Winau, O. Westphal, and R. Winau, "Paul Ehrlich-in search of the magic bullet," *Microbes and Infection*, vol. 6, no. 8, pp. 786–789, 2004.
- [60] J. Parascandola, "The theoretical basis of Paul Ehrlich's chemotherapy," *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, vol. 36, no. 1, pp. 19–43, 1981.
- [61] J. E. Kristiansen, "Dyes, antipsychotic drugs, and antimicrobial activity-fragments of a development, with special reference to the influence of Paul Ehrlich," *Danish Medical Bulletin*, vol. 36, no. 2, pp. 178–185, 1989.
- [62] J. M. May, Z. C. Qu, and C. E. Cobb, "Reduction and uptake of methylene blue by human erythrocytes," *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, vol. 286, no. 6, pp. C1390–C1398, 2004.
- [63] A. Rück, K. Heckelsmiller, N. Akgün et al., "Nonlinear dynamics of intracellular methylene blue during light activation of cell cultures," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 66, no. 6, pp. 837–841, 1997.
- [64] M. R. Hamblin and G. Jori, *Photodynamic Inactivation of Microbial Pathogens: Medical and Environmental Applications*, Royal Society of Chemistry, London, UK, 2011.
- [65] M. Wainwright, "Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT)," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 42, no. 1, pp. 13–28, 1998.
- [66] T. Maisch, "A new strategy to destroy antibiotic resistant microorganisms: antimicrobial photodynamic treatment," *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 9, no. 8, pp. 974–983, 2009.

- [67] L. M. Girollo, M. P. Felipe, M. A. De Oliveira, E. Munin, L. P. Alves, and M. S. Costa, "Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) with methylene blue increases membrane permeability in *Candida albicans*," *Lasers in Medical Science*, vol. 24, no. 1, pp. 109–112, 2009.
- [68] G. G. Carvalho, M. P. Felipe, and M. S. Costa, "the photodynamic effect of methylene blue and toluidine blue on *Candida albicans* is dependent on medium conditions," *Journal of Microbiology*, vol. 47, no. 5, pp. 619–623, 2009.
- [69] S. Menezes, M. A. M. Capella, and L. R. Caldas, "Photodynamic action of methylene blue: repair and mutation in *Escherichia coli*," *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, vol. 5, no. 3-4, pp. 505–517, 1990.
- [70] H. Singh and D. D. Ewing, "Methylene blue sensitized photoinactivation of *E. coli* ribosomes: effect on the RNA and protein components," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 28, no. 4-5, pp. 547–552, 1978.
- [71] C. M. Cassidy, R. F. Donnelly, and M. M. Tunney, "Effect of sublethal challenge with photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) on the antibiotic susceptibility of clinical bacterial isolates," *Journal of Photochemistry and Photobiology, B*, vol. 99, no. 1, pp. 62–66, 2010.
- [72] P. S. Zolfaghari, S. Packer, M. Singer et al., "In vivo killing of *Staphylococcus aureus* using a light-activated antimicrobial agent," *BMC Microbiology*, vol. 9, 2009.
- [73] M. S. Baptista and M. Wainwright, "Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) for the treatment of malaria, leishmaniasis and trypanosomiasis," *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, vol. 44, no. 1, pp. 1–10, 2011.
- [74] S. J. Wagner, A. Skripchenko, D. Robinette, J. W. Foley, and L. Cincotta, "Factors affecting virus Photoinactivation by a series of phenothiazine dyes," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 67, no. 3, pp. 343–349, 1998.
- [75] R. A. Floyd, J. E. Schneider, and D. P. Dittmer, "Methylene blue photoinactivation of RNA viruses," *Antiviral Research*, vol. 61, no. 3, pp. 141–151, 2004.
- [76] M. Wainwright, "Methylene blue derivatives-suitable photoantimicrobials for blood product disinfection?" *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 16, no. 4, pp. 381–394, 2000.
- [77] M. Wainwright and K. B. Crossley, "Methylene blue-a therapeutic dye for all seasons?" *Journal of Chemotherapy*, vol. 14, no. 5, pp. 431–443, 2002.

- [78] M. Wainwright, D. A. Phoenix, T. E. Smillie, and D. R. A. Wareing, "Phenothiaziniums as putative photobactericidal agents for red blood cell concentrates," *Journal of Chemotherapy*, vol. 13, no. 5, pp. 503–509, 2001.
- [79] M. Wainwright, H. Mohr, and W. H. Walker, "Phenothiazinium derivatives for pathogen inactivation in blood products," *Journal of Photochemistry and Photobiology, B*, vol. 86, no. 1, pp. 45–58, 2007.
- [80] M. Wilson, "Lethal photosensitisation of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 3, no. 5, pp. 412–418, 2004.
- [81] S. George and A. Kishen, "Photophysical, photochemical, and photobiological characterization of methylene blue formulations for light-activated root canal disinfection," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 12, no. 3, Article ID 034029, 2007.
- [82] R. Ng, F. Singh, D. A. Papamanou et al., "Endodontic photodynamic therapy ex vivo," *Journal of Endodontics*, vol. 37, no. 2, pp. 217–222, 2011.
- [83] F. Foschi, C. R. Fontana, K. Ruggiero et al., "Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals in vitro," *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 39, no. 10, pp. 782–787, 2007.
- [84] S. Jaju and P. P. Jaju, "Newer root canal irrigants in horizon: a review," *International Journal of Dentistry*, vol. 2011, Article ID 851359, 2011.
- [85] N. S. Soukos, P. S. Y. Chen, J. T. Morris et al., "Photodynamic therapy for endodontic disinfection," *Journal of Endodontics*, vol. 32, no. 10, pp. 979–984, 2006.
- [86] J. L. Fimple, C. R. Fontana, F. Foschi et al., "Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro," *Journal of Endodontics*, vol. 34, no. 6, pp. 728–734, 2008.
- [87] R. De Carvalho Goulart, G. fedei, S. L. S. Souza, A. Cláudio Tedesco, and P. Ciancaglini, "Comparative study of methylene blue and erythrosine dyes employed in photodynamic therapy for inactivation of planktonic and biofilm-cultivated *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*," *Photomedicine and Laser Surgery*, vol. 28, no. 1, pp. S85–S90, 2010.
- [88] X. Ragàs, T. Dai, G. P. Tegos, M. Agut, S. Nonell, and M. R. Hamblin, "Photodynamic inactivation of *Acinetobacter baumannii* using phenothiazinium dyes: in vitro and in vivo studies," *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 42, no. 5, pp. 384–390, 2010.
- [89] Zeitouni, NC., Shieh, S., Oseroff, AR. 2001. "Laser and photodynamic therapy in the management of cutaneous malignancies", *Clin Dermatol*, 19, 329–338.

- [90] Al Buainian, H., Verhaeghe, E., Dierckxsens, L., Naeyaert, JM. 2003. "Early treatment of hemangiomas with lasers A review", *Dermatology*, 206, 370–373.
- [91] Azizkhan, RG. 2003. "Laser surgery: new applications for pediatric skin and airway lesions", *Curr Opin Pediatr*, 15, 243–247.
- [92] Papadavid, E., Katsambas, A. 2003. "Lasers for facial rejuvenation: a review", *Int J Dermatol*, 42, 480–487.
- [93] Goldberg, DJ. 2002. "Laser hair removal", *Dermatol Clin*, 20, 561– 567.
- [94] Szeimies, RM., Hein, R., Baumler, W., Heine, A., Landthaler, M. 1994. "A possible new incoherent lamp for photodynamic treatment of superficial skin lesions", *Acta Derm Venereol*, 74, 117–119.
- [95] Brancalion, L., Moseley, H. 2002. "Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy", *Lasers Med Sci*, 17, 173–186.
- [96] Whitehurst, C., Byrne, K., Moore, JV. 1993. "Development of an alternative light source to lasers for photodynamic therapy: 1. Comparative in vitro dose response characteristics", *Lasers Med Sci*, 8, 259–267.
- [97] Whitehurst, C., Humphries, JD., Moore, JV. 1995. "Development of an alternative light source to lasers for photodynamic therapy: 2. Comparative in vivo tumour response characteristics", *Lasers Med Sci*, 10, 121–126.
- [98] Morton, CA., Whitehurst, C., Moseley, H., Moore, JV., MacKie, RM. "Development of an alternative light source to lasers for photodynamic therapy: III. Clinical evaluation in the treatment of pre-malignant non-melanoma skin cancer", *Lasers Med Sci*, 10, 165–171. 1995.
- [99] Moseley, H. 1996. "Total effective fluence: a useful concept in photodynamic therapy", *Lasers Med Sci*, 11, 139-143.
- [100] Soler, AM., Angell-Petersen, E., Warloe, T., Tausjo, J., Steen, HB., Moan, J., Giercksky, KE. 2000. "Photodynamic therapy of superficial basal cell carcinoma with 5- aminolevulinic acid with dimethylsulfoxide and ethylenediaminetetraacetic acid: a comparison of two light sources", *Photochem Photobiol*, 71, 724 -729.
- [101] Clark, C., Bryden, A., Dawe, R., Moseley, H., Ferguson, J., Ibbotson, SH. 2003. "Topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for cutaneous lesions: outcome and comparison of light sources", *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 19, 134–141.

- [102] Zhou, X.; Pogue, B.W.; Chen, B.; Demidenko, E.; Joshi, R.; Hoopes, J.; Hasan, T. Pretreatment photosensitizer dosimetry reduces variation in tumor response. *IJROBP* 2006, 64, 1211–1220.
- [103] Wang, K.K.; Finlay, J.C.; Busch, T.M.; Hahn, S.M.; Zhu, T.C. Explicit dosimetry for photodynamic therapy: Macroscopic singlet oxygen modeling. *J. Biophotonics* 2010, 3, 304–318.
- [104] Foster, T.H.; Murant, R.S.; Bryant, R.G.; Knox, R.S.; Gibson, S.L.; Hilf, R. Oxygen Consumption and Diffusion Effects in Photodynamic Therapy. *Radiat. Res.* 1991, 126, 296–303.
- [105] Hu, X.-H.; Feng, Y.; Lu, J.Q.; Allison, R.R.; Cuenca, R.E.; Downie, G.H.; Sibata, C.H. Modeling of a Type II Photofrin-mediated Photodynamic Therapy Process in a Heterogeneous Tissue Phantom. *Photochem. Photobiol.* 2005, 81, 1460–1468.
- [106] Globocan 2012. “Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012”. Information and online prediction. WHO International Agency for Research of Cancer; <http://globocan.iarc.fr/Pages/fact/sheets/cancer.aspx>.
- [107] Ferlay, J., Steliarova-Foucher, E., Lortet-Tieulent, J., Rosso, S., Coebergh, J.W., Comber, H., et al. 2013. “Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012”, *Eur J cancer*, 49, 1374-1403.
- [108] Siegel, R., DeSantis, C., Jemal, A. 2014. “Colorectal cancer statistics, 2014. CA: Cancer”, *J Clin*, 64, 104-117.
- [109] Brown, S.B., Brown, E.A., Walker, I. 2004. “The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment”, *Lancet Oncol*, 5, 497-508.
- [110] Kousius, P.C., Henderson, B.W., Maier, P.G., Gollnick, S.O. 2007. “Photodynamic therapy enhancement of antitumor immunity is regulated by neutrophils”, *Cancer Res*, 67, 10501-10.
- [111] Barr, H., Krasner, N., Boulos, P.B., Chatlani, P., Bown, S.G. 1990. “Photodynamic therapy for colorectal cancer: a quantitative pilot study”, *Br J Surg*, 77(1), 93-6.
- [112] Guo H.W., Lin L.T., Chen P.H., Ho M.H., Huang W.T., Lee Y.J., Chiou S.H., Hsieh Y.S., Dong C.Y., Wang H.W. 2015. “Low-fluence rate, long duration photodynamic therapy in glioma mouse model using organic light emitting diode(OLED)”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12, 504—510.
- [113] Yiyun Dong 2016. “A new LED device used for photodynamic therapy in treatment of moderate to severe acne vulgaris”, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 13, 188—195.

- [114] Agut-Busquet E, Romaní J, Gilaberte Y, García-Malinis A, Ribera-Pibernat M, Luelmo J. 2016. "Photodynamic therapy with intralesional methylene blue and a 635 nm light-emitting diode lamp in hidradenitis suppurativa: a retrospective follow-up study in 7 patients and a review of the literature, *Photochem*", *Photobiol. Sci.*,15, 1020.
- [115] Bassir, SH., Moslemi, N. et al. 2012. "Photoactivated disinfection using light-emitting diode as an adjunct in the management of chronic periodontitis: a pilot double-blind split-mouth randomized clinical trial", *Journal of Clinic Periodontology* Jan;40(1):65-72.
- [116] Saager, R. B. et al. 2013. "A Light Emitting Diode (LED) Based Spatial Frequency Domain Imaging System for Optimization of Photodynamic Therapy of Nonmelanoma Skin Cancer: Quantitative Reflectance Imaging", *Lasers in Surgery and Medicine*, 45, 207–215.
- [117] Etcheverry ME, Pasquale MA, Garavaglia M. 2016. "Photodynamic therapy of HeLa cell cultures by using LED or laser sources", *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 160, 271–277.
- [118] Leal CRL, Alvarenga LH, Oliveira-Silva T, Kato IT, Godoy-Miranda B, Bussadori SK, Ribeiro MS, Prates RA. 2017. "Antimicrobial photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* is altered by glucose in the presence of methylene blue and red LED", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 19,1–4.
- [119] Wawrzyniec K, Kawczyk-Krupka A, Czuba ZP, Król W, Sieroń A. 2015. "The influence of ALA-mediated photodynamic therapy on secretion of selected growth factors by colon cancer cells in hypoxia-like environment in vitro", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12, 598–611.
- [120] Guo HW, Lin LT, Chen PH, Ho MH, Huang WT, Lee YJ, Chiou SH, Hsieh YS, Dong CY, Wang HW. 2015. "Low-fluence rate, long duration photodynamic therapy in glioma mouse model using organic light emitting diode(OLED)", *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 12, 504—510.
- [121] Tomoya, H. 2013. "Efficacy of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy using light-emitting diodes in human colon cancer cells", *Oncology Reports*, 29, 911-916.
- [122] H.S. Lim, "Reduction of thermal damage in photodynamic therapy by laser irradiation techniques," *J. Biomed. Optics* 17(12), 128001 (2012).
- [123] Zhu, T.C.; Finlay, J.C. The role of photodynamic therapy (PDT) *Physics. Med. Phys.* 2008, 35, 3127–3136.
- [124] Wilson, B.C.; Patterson, M.S. The physics, Biophysics, and technology of photodynamic therapy. *Phys. Med. Biol.* 2008, 53, R61–R109.

- [125] Dougherty, T.J. Photodynamic Therapy. *Photochem. Photobiol.* 1993, 58, 896–900.
- [126] Foote, C.S. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem. Photobiol.* 1991.
- [127] Foote, C.S. Photosensitized Oxidation and Singlet Oxygen: Consequences in Biological Systems. In *Free Radicals in Biology*; Pryor, W.A., Ed.; Academic Press: New York, NY, USA, 1976; pp. 85–133.
- [128] Weishaupt, K.R.; Gomer, C.J.; Dougherty, T.J. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-activation of a murine tumor. *Can. Res.* 1976, 36, 2326–2392.
- [129] D. Kessel and Y. Luo, “Mitochondrial photodamage and PDT-induced apoptosis,” *J. Photochem. Photobiol.*, B 4, 89–95, 1998.
- [130] H. J. Laubach, S. K. Chang, S. Lee, I. Rizvi, D. Zurakowski, S. J. Davis, C. R. Taylor, and T. Hasan, “In vivo singlet oxygen dosimetry of clinical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy,” *J. Biomed. Opt.* 13, 050504, 2008.
- [131] M. J. Niedre, M. S. Patterson, and B. C. Wilson, “Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells in vitro and tissues in vivo,” *Photochem. Photobiol.* 75, 382–391, 2002.
- [132] H. W. Wang, M. E. Putt, M. J. Emanuele, D. B. Shin, E. Glatstein, A. G. Yodh, and T. M. Busch, “Treatment-induced changes in tumor oxygenation predict photodynamic therapy outcome,” *Cancer Res.* 64, 7553–7561, 2004.
- [133] Sandell, J.L.; Zhu, T.C. A review of in vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT. *J. Biophoton.* 2011, 4, 773–787.
- [134] Finlay, J.C.; Mitra, S.; Patterson, M.S.; Foster, T.H. Photobleaching kinetics of Photofrin in vivo and in multicell tumour spheroids indicate two simultaneous bleaching mechanisms. *Phys. Med. Biol.* 2004, 49, 4837–4860.
- [135] Moan, J.; Berg, K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.* 1991, 53, 549–553.
- [136] Penjweini, R.; Liu, B.; Kim, M.M.; Zhu, T.C. Explicit dosimetry for 2-(1-Hexyloxyethyl)-2-devinyl pyropheophorbide-a (HPPH) mediated photodynamic therapy: Macroscopic singlet oxygen modeling. *J. Biomed. Opt.* 2015.
- [137] Qiu, H.; Kim, M.M.; Penjweini, R.; Zhu, T.C. Macroscopic singlet oxygen modeling for dosimetry of Photofrin-mediated photodynamic therapy: An in vivo study. *J. Biomed. Opt.* 2016.

- [138] Zhu, T.C.; Kim, M.M.; Liang, X.; Finlay, J.C.; Busch, T.M. In vivo singlet oxygen threshold doses for PDT. *Photon Lasers Med.* 2015, 4, 59–71.
- [139] Jarvi, M.T.; Niedre, M.J.; Patterson, M.S.; Wilson, B.C. Singlet Oxygen Luminescence Dosimetry (SOLD) for Photodynamic Therapy: Current Status, Challenges and Future Prospects. *Photochem. Photobiol.* 2006, 82, 1198–1210.
- [140] Niedre, M.J.; Yu, C.S.; Patterson, M.S.; Wilson, B.C. Singlet oxygen luminescence as an in vivo photodynamic therapy dose metric: Validation in normal mouse skin with topical amino-levulinic acid. *Br. J. Cancer* 2005, 92, 298–304.
- [141] Michele M. Kim, Rozhin Penjweini, Nathan R. Gemmell, Israel Veilleux, Aongus McCarthy, Gerald S. Buller, Robert H. Hadfield, Brian C. Wilson and Timothy C. Zhu, 'A Comparison of Singlet Oxygen Explicit Dosimetry (SOED) and Singlet Oxygen Luminescence Dosimetry (SOLD) for Photofrin-Mediated Photodynamic Therapy. *Cancers*, 8, 109, 2016.
- [142] F. W. Hetzel, S. M. Brahmar, Q. Chen, S. L. Jacques, M. S. Patterson, B. C. Wilson, and T. C. Zhu, The American Association of Physicists in Medicine, Photodynamic Therapy Dosimetry, AAPM Report No. 88, Medical Physics Publishing for the American Association of Physicists in Medicine, (2005).
- [143] C. P. Neckel, "Comparative study on CW-mode versus pulsed mode in AlGaAs-diode Lasers," *Proc. SPIE* 4249, 44-49 (2001).
- [144] M. Panjehpour, B. F. Overholt, R. E. Sneed, R. C. DeNovo, and M. G. Petersen, "Comparison between pulsed and continuous wave Lasers for photodynamic therapy," *Proc. SPIE* 1881, 319-324 (1993).
- [145] K. Matthewson, P. Coleridge-Smith, T. C. Northfield, and S. G. Bown, "Comparison of continuous-wave and pulsed excitation for interstitial Neodymium-YAG Laser induced hyperthermia," *Lasers Med. Sci.* 1, 197-201 (1986).
- [146] J. W. Feather, I. Driver, P. R. King, C. Lowdell, and B. Dixon, "Light delivery to tumor tissue through implanted optical fibers during photodynamic therapy," *Lasers Med. Sci.* 5, 345-350 (1990).
- [147] W. M. Star, "Light delivery and light dosimetry for photodynamic therapy," *Lasers Med. Sci.* 5, 107-113 (1990).
- [148] L. H. Murrer, J. P. Marijnissen, and W. M. Star, "Light distribution by linear diffusing sources for photodynamic therapy," *Phys. Med. Biol.* 41, 951-961 (1996).
- [149] P. R. Ogilby, "Singlet oxygen: There is indeed something new under the sun," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 8, pp. 3181–3209, (2010).

- [150] M. C. DeRosa and R. J. Crutchley, "Photosensitized singlet oxygen and its applications," *Coordination Chem. Rev.*, vol. 233–234, pp. 351–371, (2002).
- [151] C. Schweitzer and R. Schmidt, "Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen," *Chem. Rev.*, vol. 103, no. 5, pp. 1685–1757, (2003).
- [152] T.S. Mang, "Lasers and light sources for PDT: past, present and future," *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 1, 43–48 (2004).
- [153] T. J. Dougherty *et al.*, "Photodynamic therapy," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 90, no. 12, pp. 889–905, Jun. (1998).
- [154] G. Yu *et al.*, "Noninvasive monitoring of murine tumor blood flow during and after photodynamic therapy provides early assessment of therapeutic efficacy," *Clin. Cancer Res.*, vol. 11, no. 9, pp. 3543–3552, (2005).
- [155] B. C. Wilson, M. S. Patterson, and L. Lilge, "Implicit and explicit dosimetry in photodynamic therapy: A New paradigm," *Lasers Med. Sci.*, vol. 12, no. 3, pp. 182–199, (1997).
- [156] R. A. Weersink *et al.*, "Techniques for delivery and monitoring of TOOKAD (WST09)-mediated photodynamic therapy of the prostate: Clinical experience and practicalities," *J. Photochem. Photobiol.*, vol. 79, no. 3, pp. 211–222, (2005).
- [157] M. S. Thompson *et al.*, "Clinical system for interstitial photodynamic therapy with combined on-line dosimetry measurements," *Appl. Opt.*, vol. 44, no. 19, pp. 4023–4031, (Jul. 2005).
- [158] T. C. Zhu, J. C. Finlay, and S. M. Hahn, "Determination of the distribution of light, optical properties, drug concentration, and tissue oxygenation *in vivo* in human prostate during motexafin lutetium-mediated photodynamic therapy," *J. Photochem. Photobiol.*, vol. 79, no. 3, pp. 231–241, (Jun. 2005).
- [159] H. Zeng, M. Korbelik, D. I. McLean, C. MacAulay, and H. Lui, "Monitoring photoproduct formation and photo bleaching by fluorescence spectroscopy has the potential to improve PDT dosimetry with a verteporfinlike photosensitizer," *Photochem. Photobiol.*, vol. 75, no. 4, pp. 398–405, (Apr. 2002).
- [160] I. Georgakoudi, M. G. Nichols, and T. H. Foster, "The mechanism of Photofrin photo bleaching and its consequences for photodynamic dosimetry," *Photochem. Photobiol.*, vol. 65, no. 1, pp. 135–144, (Jan. 1997).
- [161] J. S. Dysart and M. S. Patterson, "Photo bleaching kinetics, photoproduct formation, and dose estimation during ALA induced PpIX PDT of MLL cells under well oxygenated and hypoxic conditions," *Photochem. Photobiol. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 73–81, (Jan. 2006).

- [162] A. Molckovsky and B. C. Wilson, "Monitoring of cell and tissue responses to photodynamic therapy by electrical impedance spectroscopy," *Phys. Med. Biol.*, vol. 46, no. 4, pp. 983–1002, (Apr. 2001).
- [163] D. Lapointe *et al.*, "High-resolution PET imaging for *in-vivo* monitoring of tumor response after photodynamic therapy in mice," *J. Nucl. Med.*, vol. 40, no. 5, pp. 876–882, (May 1999).
- [164] M. Niedre, M. S. Patterson, and B. C. Wilson, "Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo*," *Photochem. Photobiol.*, vol. 75, no. 4, pp. 382–391, (Apr. 2002).
- [165] Nathan R. Gemmell, Aongus McCarthy, Baochang Liu, Michael G. Tanner, Sander D. Dorenbos, Valery Zwiller, Michael S. Patterson, Gerald S. Buller, Brian C. Wilson, and Robert H. Hadfield, "Singlet oxygen luminescence detection with a fiber coupled superconducting nanowire single-photon detector," *Opt. Express*, vol. 21, no. 4, pp. 5005–5013, (Feb. 2013).
- [166] Gemmell NR, McCarthy A, Kim MM, Veilleux I, Zhu TC, Buller GS, Wilson BC, Hadfield RH., "A compact fiber-optic probe-based singlet oxygen luminescence detection system," *J. Biophoton.*, vol. 10, no. 2, pp. 320–326, (Feb. 2017).
- [167] G. Boso *et al.*, "Time-resolved singlet-oxygen luminescence detection with an efficient and practical semiconductor single-photon detector," *Biomed. Opt. Express*, vol. 7, no. 1, pp. 211–224, (Dec. 2016).
- [168] Robert H. Hadfield, "Single-photon detectors for optical quantum information applications," *Nature Photon.*, vol. 3, pp. 696–705, (Dec. 2013).
- [169] S. Lee, K. Galbally-Kinney, M.F. Hinds, J.A. O'Hara, B.W. Pogue, A. Liang, T. Hasan, and S.J. Davis "A singlet oxygen monitor as an *in vivo* photodynamic therapy dosimeter" Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering (2009)
- [170] Sooyeon Kim, Takashi Tachikawa, Mamoru Fujitsuka, and Tetsuro Majima "Far-Red Fluorescence Probe for Monitoring Singlet Oxygen during Photodynamic Therapy" American Chemical Society, 2014, 136, 11707–11715
- [171] Marek Scholz, Roman Dedic, Jan Valenta, Thomas Breitenbach and Jan Hala "Real-time luminescence micro spectroscopy monitoring of singlet oxygen in individual cells" *Photochem. Photobiol. Sci.*, 13, 1203(2014)
- [172] S. M. Popoff, A. Goetschy, S. F. Liew, A. D. Stone, and H. Cao, "Coherent Control of Total Transmission of Light through Disordered Media", *Phys. Rev. Lett.* 112, 133903 (2014).

- [173] W. Choi, M. Kim, D. Kim, C. Yoon, C. Fang-Yen, Q.-H. Park, and W. Choi, Preferential coupling of an incident wave to reflection Eigen channels of disordered media, *Sci. Rep.* 5, 11393 (2015).
- [174] Hsiang-Yu Lo, Po-Ching Su, Yu-Wei Cheng, Pin-I Wu, and Yong-Fan Chen “Femtowatt-light-level phase measurement of slow light pulses via beat-note interferometer”, *Vol. 18, No. 17 / Optics Express* 18498. (2010).
- [175] Jiao Xu, Xiaoshuang Chen, Wenjuan Wang, Wei Lu, “Extracting dark current components and characteristics parameters for InGaAs/InP avalanche photodiodes”, *Infrared Physics & Technology Volume 76*, , pp. 468-473 (May 2016)
- [176] Yufa Zhang, Xianan Dou, Feng Li, Xiaoquan Sun “The response characteristics of avalanche photodiodes to ultrashort pulsed laser”, *Infrared Physics & Technology Volume 73*, , pp. 226-231 (November 2015)
- [177] Y. Uliel, D. Cohen-Elias , N. Siconolfi , I. Grimberg , N. Snapi , Y. Paltiel , M. Katz InGaAs/GaAsSb Type-II super lattice based photodiodes for short wave infrared detection, *Infrared Physics & Technology Volume 84*, , pp. 63-71 (August 2017).
- [178] Guipeng Liu, Xin Wang, Jingze Zhao, Wenjie Chen, Yonghui Tian, Jianhong Yang, “Modeling a novel InP/InGaAs avalanche photodiode structure: Reducing the excess noise factor” *Communications* 435 pp.374–377, (2019).
- [179] Weitao Li, Dong Huang, Yan Zhang, Yangyang Liu, Yueqing Gu, and Zhiyu Qian, “Real-Time Monitoring of Singlet Oxygen and Oxygen Partial Pressure During the Deep Photodynamic Therapy In Vitro”, *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 44, No. 9, 2737–2745, (2016)
- [180] A. Jimenez-Banzo, X. Ragas, P. Kapusta et al., “Time-resolved methods in biophysics. 7. Photon counting vs. analog time-resolved singlet oxygen phosphorescence detection,” *Photochem. Photobiol. Sci.* 7(9), 1003 (2008).
- [181] J. Schlothauer, S. Hackbarth, B. Roder, “A new benchmark for time-resolved detection of singlet oxygen luminescence - Revealing the evolution of lifetime in living cells with low dose illumination,” *Laser Phys. Lett.* 6(3), 216 (2009).
- [182] B. Li, H. Lin, D. Chen et al., “Detection system for singlet oxygen luminescence in photodynamic therapy,” *Chin. Opt. Lett.* 8(1), 86 (2010).
- [183] W. Baumler, J. Regensburger, A. Knak et al., “UVA and endogenous photosensitizers—The detection of singlet oxygen by its luminescence,” *Photochem. Photobiol. Sci.* 11(1), 107 (2012).
- [184] I. Coto Hernández, M. Buttafava, G. Boso, A. Diaspro, A. Tosi, and G. Vicidomini, “Gated STED microscopy with time-gated single-photon avalanche diode,” *Biomed. Opt. Express* 6(6), 2258–2267 (2015).

- [185] M. Mazurenka, L. Di Sieno, G. Boso, D. Contini, A. Pifferi, A. D. Mora, A. Tosi, H. Wabnitz, and R. Macdonald, "Non-contact in vivo diffuse optical imaging using a time-gated scanning system," *Biomed. Opt. Express* 4(10), 2257–2268 (2013).
- [186] E. Alerstam, T. Svensson, S. Andersson-Engels, L. Spinelli, D. Contini, A. Dalla Mora, A. Tosi, F. Zappa, and A. Pifferi, "Single-fiber diffuse optical time-of-flight spectroscopy," *Opt. Lett.* 37(14), 2877–2879 (2012).
- [187] T. Lunghi, C. Barreiro, O. Guinnard, R. Houlmann, X. Jiang, M. A. Itzler, and H. Zbinden, "Free-running single photon detection based on a negative feedback InGaAs APD," *J. Mod. Opt.* 59(17), 1481–1488 (2012).
- [188] I. Bargigia, A. Tosi, A. Bahgat Shehata, A. Della Frera, A. Farina, A. Bassi, P. Taroni, A. Dalla Mora, F. Zappa, R. Cubeddu, and A. Pifferi, "Time-resolved diffuse optical spectroscopy up to 1700 nm by means of a time gated InGaAs/InP single-photon avalanche diode," *Appl. Spectrosc.* 66(8), 944–950 (2012).
- [189] Finger VH "Vascular effects of photodynamic therapy" *J Clin Laser Med Surg.* 1996 Oct;14(5):323-8.
- [190] A. Juzeniene, P. Juzenas, L. W. Ma, V. Iani, and J. Moan, "Effectiveness of different light sources for 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy," *Lasers Med. Sci.* 19,139-149 (2004).
- [191] H. S. Lim, "Development and optimization of a diode Laser for photodynamic therapy," *Int. J. Laser Ther.* 20(3), 195–203 (2011).
- [192] H. S. Lim, "Design and evaluation of excitation light source device for fluorescence endoscope," *Proc. SPIE* 7380, 73805A (2009).
- [193] V.C. Colussi, D.K. Feyes, H. Mukhtar, Perspectives of photodynamic therapy for skin diseases, *Skin Pharmacol. Appl. Ski. Physiol.* 11 (1998) 336–346.
- [194] Tope WD, Shaffer JJ. Photodynamic Therapy. *Dermatology*'de. Ed. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. 31(4), 327–360 (1986).
- [195] Jean-Luc Boulnois ,Photophysical "Processes in Recent Medical Laser Developments: a Review". *Lasers in Medical Science* Vol 1,(1986)
- [196] Oguz Kaan Kazan, Ali Furkan Kamanli, Mustafa Zahid Yildiz, Halil Arslan, Hyun Soo Lim' Closed Loop Laser Diode Temperature Control System Design' International conference on engineering technology and innovation (ICETI), (2017)
- [197] Heikes, R.R. and R.W. Ure, Thermoelectricity: science and engineering. Interscience Publishers New York. (1961).

- [198] Singh, G., Steady state and transient analysis of thermoelectric devices using finite element method. (2003).
- [199] Chengxiang, L., "Design of Automatic Temperature Control System on Laser Diode of Erbium-Doped Fiber Source ", Fourth International Conference on Intelligent Computation Technology and Automation, (2011).
- [200] Hu, M., "Improved PID algorithms with Application to Excimer Laser Temperature Control ", 2014 2nd International Conference on Systems and Informatics, (2014).
- [201] Huang, H., "Design of a Small Temperature Control System Based on TEC", 9th International Symposium on Computational Intelligence and Design, (2016).
- [202] Muhammad Imran Shahid, Babar Hussain, Muhammad Aslam; 'Design and development of photodynamic therapy Laser system' International Research Journal of Electrical and Electronics Engineering Vol. 2(1), pp. 007-017, December, (2015).
- [203] Pieter B.A.A. van Driel, Martin C. Boonstra, Maxime D. Slooter, Raimond Heukers, Marieke A. Stammes, Thomas J.A. Snoeks , Henriette S. de Bruijn , Paul J. van Diest f , Alexander L. Vahrmeijer , Paul M.P. van Bergen en Henegouwen , Cornelis J.H. van de Velde c, Clemens W.G.M. Löwik , Dominic J. Robinson , Sabrina Oliveira 'EGFR targeted nanobody–photosensitizer conjugates for photodynamic therapy in a pre-clinical model of head and neck cancer' Journal of Controlled Release 229 93–105,(2016).
- [204] David O. Oluwole, Fatma Aslhan Sar, EarlPrinsloo, Edith Dube, Abdulcelil Yuzer, Tebello Nyokong ,Mine Ince 'Photophysicochemical properties and photodynamic therapy activity of highly water-soluble Zn(II) phthalocyanines' Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 203 236–243,(2018).
- [205] P. V. Marks, P. E. Belchetz, A. Saxena, U. Igbaseimokumo, S.Thomson, M. Nelson, M. R. Stringer , J. A. Holroyd & S. B. Brown 'Effect of photodynamic therapy on recurrent pituitary adenomas: clinical phase I/II trial Ð an early report' British Journal of Neurosurgery; 14(4): 317±325,(2000).
- [206] B. Karamata, M. Sickenberg and H. van den Bergh 'A Fibreoptic Light Distributor for the Preventative Photodynamic Therapy of Secondary Cataract' Lasers Med Sci, 15:238–245,(2000).
- [207] Barbara Zoreca, Dejan Škrabelj b , Marko Marincek , Damijan Miklavci , Nataša Pavšelj a, 'The effect of pulse duration, power and energy of fractional Er:YAG Laser for transdermal delivery of differently sized FITC dextrans 'International Journal of Pharmaceutics 516 204–213,(2017).

- [208] Mihaela Balu, Ilyas Saytashev, Jue Hou, Marcos Dantus, and Bruce J. Tromberg; ‘Sub-40 fs, 1060-nm Yb-fiber Laser enhances penetration depth in nonlinear optical microscopy of human skin’ *Journal of Biomedical Optics* 120501-1, Vol. 20(12),(2015)
- [209] Jing Gao, Changbing Shen, Randy Ko, Xiadong Zheng, Zhongying Wang Shengxiu Liu, Yongjiang Li, Mingjun Tang, Weiwei Yin, Chunjun Yang & Xuejun Zhang ‘Combination effect of super pulsed carbon dioxide Laser and photodynamic therapy for recalcitrant facial flat warts: A preliminary study’ *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, VOL. 18, NO. 1, 56–57,(2016).
- [210] Vladimir V. Klimenko, Nickolay A. Knyazeva, Fedor V. Moiseenko, Anatoliy A. Rusanov, Alexey A. Bogdanova, Michael V. Dubina ‘Pulse mode of Laser photodynamic treatment induced cell apoptosis’ *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 13 101–107,(2016).
- [211] V.A. Vinnichenko , A.A. Kovalenko , I.V. Yaroslavsky , G.B. Altshuler Effects of continuous wave, conventional pulse and super-pulse Tm fiber Laser on tissue: a comparison study, 2018 International Conference Laser Optics (ICLO) 4-8 June 2018, *IEEE Xplore*: 16 August (2018)
- [212] Anju Y, Asheesh G , Gaurav K. K., Saurabh V., Sanjeev K. S., Shashi B. S., “ Photobiomodulatory effects of superpulsed 904 nm laser therapy on bioenergetics status in burn wound healing. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 162, 77–85. (2016).
- [213] Santo R., M., Pina B., Annunziata D., Luigi B.,- Martina S., Giusy S.,| Steven P. N., “CO₂ laser and photodynamic therapy: Study of efficacy in periocular BCC. *Dermatologic Therapy*;31:e12616. (2018).
- [214] Silvia S., Marco M., Germana M., Renato P., Rosa A. C., Giuliana M., Superpulsed Laser Irradiation Increases Osteoblast Activity Via Modulation of Bone Morphogenetic Factors. *Lasers in Surgery and Medicine* 41:298–304 (2009)
- [215] Vanessa dos S. Et al. “The thermal impact of phototherapy with concurrent super-pulsed lasers and red and infrared LEDs on human skin. *Lasers Med Sci.* Jul;30(5):1575-81(2015).
- [216] Ercan K, Inci C, Murat G,” Monitoring system for investigating the effect of temperature change on optical properties”, *Lasers in Medical Science*, 33:1763–1768, (2018).
- [217] Nyst HJ, Tan IB, Stewart FA, Balm AJ. ‘Is photodynamic therapy a good alternative to surgery and radiotherapy in the treatment of head and neck cancer?’ *Photodiagnosis Photodynamic Therapy*. 2009; 6(1):3–11.

- [218] Gullledge CJ, Dewhirst MW. 'Tumor oxygenation: a matter of supply and demand.' *Anticancer Res.* 1996; 16(2):741–749.
- [219] I.M. Gould, Community-acquired MRSA: can we control it? *Lancet* 368 (2006) 824–826.
- [220] J. Dordel, C. Kim, M. Chung, M.P. Gándara, M.T.J. Holden, J. Parkhill, H. Lencastre, S.D. Bentley, A. Tomasz, Novel determinants of antibiotic resistance: identification of mutated loci in highly methicillin-resistant subpopulations of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Rev. mBIO* 5 (2014) 1–9.
- [221] M.H. Chan, Y.T. Pan, I.J. Lee, C.W. Chen, Y.C. Chan, M. Hsiao, F. Wang, L. Sun, X. Chen, R.S. Liu, Minimizing the heat effect of photodynamic therapy based on inorganic nanocomposites mediated by 808 nm near-infrared light, *Small* 13 (2017) 1–12.
- [222] J. Wu, H. Xu, W. Tang, R. Kopelman, M.A. Philbert, C. Xi, Eradication of bacteria in suspension and biofilms using methylene blue-loaded dynamic nanoplatforms, *Antimicrob. Agents Chemother.* 53 (2009) 3042–3048.
- [223] M. Wainwright, Photodynamic antimicrobial chemotherapy (AMPDT), *J. Antimicrob. Chemother.* 42 (1998) 13–28.
- [224] M.R. Detty, S.L. Gibson, S.J. Wagner, Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 3897–3915.
- [225] Q. Peng, T. Warloe, K. Berg, J. Moan, M. Kongshaug, K.E. Giercksky, 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy-clinical research and future challenges, *Cancer* 79 (1997) 2282–2308.
- [226] S.F.G. Vilela, J.C. Junqueira, J.O. Barbosa, M. Majewski, E. Munin, A.O.C. Jorge, Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms by malachite green anphenothiazine dyes: an in vitro study, *Arch. Oral Biol.* 57 (2012) 704–710.
- [227] Y. Jiang, A.W. Leung, H. Hua, X. Rao, C.X. Hindawi, Photodynamic action of LED activated curcumin against *Staphylococcus aureus* involving intracellular ROS increase and membrane damage, *Int. J. Photogr.* (2014) 1–7.
- [228] Alberto Sabin Moura Borba et al. Photodynamic therapy with high-power LED mediated by erythrosine eliminates *Enterococcus faecalis* in planktonic forms. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 19 (2017) 348–351
- [229] Kim, M.M.; Ghogare, A.A.; Greer, A.; Zhu, T.C. On the in vivo photocheical rate parameters for PDT reactive oxygen species modeling. *Phys. Med. Biol.* 2016, in press.

- [230] Jarvi, M.T.; Niedre, M.J.; Patterson, M.S.; Wilson, B.C. The influences of oxygen depletion and photosensitizer triplet-state dynamic during photodynamic therapy on accurate singlet oxygen luminescence monitoring and analysis of treatment dose response. *Photochem. Photobiol.* 2011, 87, 223–234.
- [231] Zhu, T.C.; Liu, B.; Penjweini, R. Study of tissue oxygen supply rate in a macroscopic photodynamic therapy singlet oxygen model. *J. Biomed. Opt.* 2015.
- [232] Finlay, J.C.; Conover, D.L.; Hull, E.L.; Foster, T.H. Porphyrin bleaching and PDT-induced spectral changes are irradiance dependent in ALA-sensitized normal rat skin in vivo. *Photochem. Photobiol.* 2001, 73, 54–63.
- [233] Chiaki Komine, Yasuhisa Tsujimoto, ‘A Small Amount of Singlet Oxygen Generated via Excited Methylene Blue by Photodynamic Therapy Induces the Sterilization of *Enterococcus faecalis*.’ *Journal of Endodontics* 2013-03-01, Volume 39, Issue 3, Pages 411-414.
- [234] Susana C.P.S. de Oliveira, Juliana S.C. Monteiro, Gustavo M. Pires-Santos, Fernando José, Pires Sampaio, Amanda P. Soares, Luiz Guilherme P. Soares, Antônio L.B. Pinheiro, LED antimicrobial photodynamic therapy with phenothiazinium dye against *Staphylococcus aureus*: An in vitro study” *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 175, 46–50, (2017).
- [235] Patrícia Michelassi Carrinho, Dora Inés Kozusny Andreani, Vislaine de Aguiar Morete, Shizumi Iseri, Ricardo Scarparo Navarro, and Antonio Balbin Villaverde. ‘A Study on the Macroscopic Morphometry of the Lesion Area on Diabetic Ulcers in Humans Treated with Photodynamic Therapy Using Two Methods of Measurement. *Photomedicine and Laser Surgery* Vol. 36, No. 1 (2018)
- [236] Timothy Briggs, Gordon Blunn, Simon Hislop, Rita Ramalheite, Caroline Bagley, David McKenna, Melanie Coathup. ‘Antimicrobial photodynamic therapy—a promising treatment for prosthetic joint infections’. *Lasers in Medical Science*, 2018, Volume 33, Issue 3, pp 523–532

ÖZGEÇMİŞ

Ali Furkan Kamanlı, 06.08.1990'da Kayseri'de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Elazığ'da tamamladı. 2008 yılında Elazığ Kaya Karakaya Fen Lisesi'nden mezun oldu. 2008 yılında başladığı Sakarya Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü'nü 2013 yılında bitirdi. 2013 yılında Sakarya Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü'nde Elektronik alanında yüksek lisans eğitimine başladı. 2015 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladıktan sonra Sakarya Üniversitesi'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaya başladı akabinde Doktora eğitimine Sakarya Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü'nde Elektronik (Dr) alanında devam etti. Üniversitelerin ayrılması sonrası Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Elektrik-Elektronik Bölümü'nde Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktadır.